©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Untersuchungen über die Hemialbumose oder das Propepton.

Von Dr. Robert **Herth.**

(Aus dem Laboratorium des Prof. R. Maly in Graz.)

Bekanntlich ist das Verhalten einer aus Eiweiss gewonnenen, vom Neutralisationspräcipitat getrennten Verdauungslosung ein sehr verschiedenes, je nachdem die Einwirkung der Pepsinsäure kurze oder längere Zeit stattfand, in der Weise, dass gewisse, für Albuminlösungen charakteristische Reactionen mit fortgesetzter Dauer der Digestion immer geringere Ausschläge geben.

In solchen Lösungen, durch kurze Verdauungszeit erhalten, entstehen, im Gegensatz zu reinen Peptonlösungen, starke Niederschläge durch Kochsalz und Essigsäure, durch Salpetersäure und durch verschiedene Metallsalze, die aber, abweichend vom Verhalten gewöhnlicher Eiweisslösungen, die Eigenthümlichkeit zeigen, sich beim Erwärmen zu lösen, beim Abkühlen wieder aufzutreten.

Ich hatte in einer diesen Gegenstand berührenden Arbeit[1] Gründe angeführt für die Überzeugung, dass diese Reactionen, welche dem Pepton zugeschrieben wurden, ihr Eintreten der wechselnden Beimengung nicht peptonisirten Eiweisses verdankten und dieser Ansicht hat sich später auch Henninger[2] angeschlossen.

R. Herth. Über die chemische Natur des Peptons und sein Verhältniss zum Eiweiss. LXXVI. Bd. Sitzb. d. k. Akad. d. Wissensch. 1877.

[2] De la nature et du rôle physiol. des peptones. Compt. rend. 86. Paris 1878.

Schmid-Mühlheim[1] aber hat zuerst mit Bestimmtheit ausgesprochen, dass es sich hier um einen Eiweisskörper sui generis handle, dessen Bildung dem Pepton vorhergehe und diesem den passenden Namen Propepton beigelegt.

Von Salkowski[2] wurde sodann auf die Identität dieses Eiweisskörpers mit der von Kühne entdeckten „Hemialbumose“[3] hingewiesen, welche letztgenannter Forscher durch Einwirkung verdünnter Säuren auf Eiweiss dargestellt, aber auch bereits als Product der Pepsinverdauung erkannt hatte.

Die bisher von den meisten angewandte Methode der Darstellung bestand in der schon von Place[4] und von Huizinga[5] angegebenen Fällung durch Essigsäure und Kochsalz und hat, nach den Angaben von Pekelharing, Huizinga bereits das eigentliche Pepton von der also ausgefällten Substanz getrennt und letztere α-Pepton genannt.

Pekelharing[6] selbst hat dann nachgewiesen, dass die angeführten eigenthümlichen Reactionen, wie sie auch Adamkiewicz[7] an seinem als „Pepton“ bezeichneten Eiweissgemenge bemerkt hatte, eben durch diesen aus der rohen Verdauungslösung durch Kochsalz und Essigsäure fällbaren, von ihm ebenfalls irrthümlich „Pepton“ genannten Körper bedingt seien.

In einer neueren Arbeit hat Kühne zusammen mit Chittenden diesen Körper einer ausführlicheren Untersuchung unterzogen, dabei die Identität der durch Pepsinverdauung erhaltenen Hemialbumose mit dem im Harn eines Osteomalacischen von ihm aufgefundenen Eiweisskörper nachgewiesen.

Als besonders charakteristisch wird von diesen Autoren zunächst das schon früher von Kühne angegebene, so höchst

---

[1] Arch. f. Anatom. u. Physiol. Physiol. Abth., 1879. S. 40.

[2] Virchow's Arch. Bd. 81. 1880.

[3] Verhandlungen d. naturwissensch. Vereines zu Heidelberg. I. Bd. 4. Heft. 1876.

[4] Onderzoekingen gedaan in het physiol. Laborat. der Leiden'sche Hoogschol 1870.

[5] Maandblatt voor Naturwetenschapen 3 Jaarg. 1873. p. 29.

[6] Pflüger's Archiv Bd. XXII. 1880.

[7] Virchow's Archiv Bd. LXXII S. 431 u. Bd. LXXV S. 144. 1877.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

eigenthümliche Verhalten zur Salpetersäure angeführt; sodann die Gerinnbarkeit in gewissen Lösungsgemischen bei weit unter 100° C. liegenden Temperaturen und die merkwürdige Löslichkeit der Gerinsel bei steigender Temperatur bis zur Siedhitze; ferner die Löslichkeit fast aller mit Reagentien (auch einer Anzahl Metallsalze) erzeugten Fällungen bei 100° C.

Zugleich wird auf die eigenthümliche Schwierigkeit hingewiesen, welche die Beantwortung der einfachen Frage macht, ob die Hemialbumose im Wasser löslich sei oder nicht.

Kühne ist geneigt, eine lösliche und eine unlösliche Modification zu unterscheiden.[1]

Pekelharing hat aus dem Verhalten seines „Peptons", wie schon Adamkiewicz aus demjenigen seines Eiweissgemisches, geschlossen, dass das „Pepton" sowohl in kaltem als in heissem Wasser schwer löslich sei, am besten dagegen sich in lauem Wasser auflöse.

Salkowski und Andere erhielten leicht lösliche Producte, die aber doch gelegentlich ohne ersichtliche Ursache, in Betreff der Klarheit ihrer Lösungen zu wünschen übrig liesen, — und so wird man bei eigenen Versuchen unter Benützung des meist gebräuchlichen Verfahrens in der That meistens auch die Sache finden, man wird ausserdem fast stets Schwierigkeiten haben, eine oder die andere Erscheinung an Lösungen verschiedener Darstellung ein zweites oder drittesmal genau so wie vielleicht beim ersten Versuch hervorzurufen, mit Ausnahme der so gut wie unfehlbaren Kühne'schen Reaction mit Salpetersäure.

Berücksichtigt man noch die Differenzen in den Resultaten der Elementaranalysen, die Kühne und später Andere mittheilten, und die im Kohlenstoffgehalt der Fibrin-Hemialbumose 1·4 pCt., im Stickstoffgehalt ebensoviel betragen, so muss man sich wirklich die Frage vorlegen, ob man in Bezug auf diese Substanz sich nicht vielleicht in demselben Irrthum befinde, der so lange für die Lehre vom Pepton verhängnissvoll war; ob nicht auch hier ein Gemenge verschiedener Körper vorliege.

---

[1] Über die nächsten Spaltungsproducte der Eiweisskörper. Zeitschrift für Biologie v. Kühne u. Voit XIX. Bd. 2. Heft. 1883.

Gibt doch ein neuerer Autor, Danilewski[1] dieser Möglichkeit einen bestimmten Ausdruck, indem er sagt: „Il est hors de doute, que nous avons dans la propepton (Hemialbumose) un mélange de plusieurs corps syntoprotalbiques.“

Die vorliegenden Untersuchungen erstrecken sich daher auf folgende Fragen:

1. Ist die bisher als Hemialbumose, resp. Propepton bezeichnete Substanz ein chemisches Individuum?
2. Ist dieselbe oder sind ihre eventuellen Bestandtheile als Spaltungsproducte des Albumins zu betrachten; welches ist das Verhältniss zu den eigentlichen Eiweisskörpern, speciell zu der Muttersubstanz und welches zum Pepton?
3. Worauf beruhen die thatsächlich vorhandenen wesentlichen Differenzen von den bisher bekannten Eiweisskörpern?

Bei dem eingeschlagenen Wege bin ich vor allem von der Voraussetzung ausgegangen, dass die Garantie für die Reinheit der einzelnen auf ihr chemisches Verhalten geprüften, schliesslich zur Elementaranalyse verwendeten Körper, durchaus nicht auf einzelnen Farben- und Fällungsreaktionen, und zumal nicht auf der Anwendung irgend einer in ihren Einzelheiten nicht vollständig klar übersehbaren Darstellungsmethode beruhen dürfe, sondern habe gesucht, die verschiedenen Einflüsse, welche bei ihrem Zusammenwirken die Erscheinungsformen wesentlich zu ändern im Stande sind, möglichst isolirt zu prüfen und so ein Gesammtbild zu gewinnen, das ein Urtheil über die fraglichen Punkte gestatten könnte.

Es wurde zu diesem Zwecke zunächst der durch Essigsäure und Kochsalz aus einer vom Neutralisationspräcipitat getrennten Verdauungslösung erhaltene Niederschlag auf verschiedene Weise in eine Anzahl Fractionen zerlegt und diese auf etwaige Differenzen geprüft.

Die ziemlich bedeutenden Verschiedenheiten der Drehungsconstante, welche bekanntlich die einzelnen Eiweissmodificationen in ihren Lösungen zeigen, liesen hoffen, dass zu diesem Zwecke die Untersuchung der Einwirkung auf das polarisirte Licht von

---

[1] Archiv des sciences physiques et naturelles XIII Per. Tome VII. Genève, 1882.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Nutzen sein könnte, ohne dass jedoch diesem einzelnen Hilfsmittel mehr Gewicht beigelegt worden wäre, als dem Verhalten zu den verschiedenen chemischen Agentien.

Von solchen wurden für besonders massgebend erkannt und daher einer eingehenden Prüfung unterzogen:

a) das Verhalten zu Wasser verschiedener Temperaturgrade,
b) das zu Alkalien und Säuren,
c) zu neutralen Salzen der Alkalien und Metalle.

Schliesslich wurde an Präparaten, für welche nach der Art ihrer Darstellung und ihres chemischen Verhaltens die Bezeichnug der Reinheit in Anspruch genommen werden konnte, die percentische Zusammensetzung ermittelt.

Fractionirte Untersuchung der Essigsäure-Kochsalz-Fällung.

Das Ausgangsmaterial war das auch den meisten bisherigen Untersuchungen zu Grunde liegende Fibrin. Die Verdauungslösungen wurden theils durch eigene Bereitung, theils durch Auflösen von Peptonum siccum des Handels[1] gewonnen, dann mit Essigsäure und Kochsalz bis zur möglichsten Ausbeute versetzt und nach Wiederauflösung des von der Flüssigkeit getrennten Niederschlags diese Procedur der Fällung mehrmals wiederholt. Die letzterhaltene Lösung wurde heiss filtrirt, eingeengt und auf mehrere Dialysatoren vertheilt.

Bei täglich drei- bis viermaligem Wasserwechsel war nach 4×24 Stunden im Aussenwasser keine Chlorreaction mehr zu erhalten; die klare Lösung wurde hienach zum dünnen, auch beim Abkühlen klar bleibenden Syrup eingeengt, zweimal durch starken Alkohol gefällt und im luftverdünnten Raum über Schwefelsäure getrocknet.

Das gelbliche Pulver enthielt nach mehrmonatlichem Verweilen im Trockenraum noch 6 bis 8 Pct. Wasser, und gab, bei 105° C. auf constantes Gewicht gebracht, im Mittel 0·18 Pct. Gesammtasche, darunter 0·12 Pct. in Wasser löslicher Bestandtheile.

---

[1] Ein grosser Theil von vorzüglich geeigneter Beschaffenheit war von Herrn Dr. Witte in Rostock dem hiesigen Laboratorium freundlichst überlassen worden.

2·045 Grm.	hinterliessen	0·0023 Grm.	in Wasser löslicher und
		0·0040	Gesammtasche (= 0·19 Pct.)
1·7283	gaben	0·0023	löslicher und
		0·0030	Gesammtasche (= 0·17 Pct.)

Diese, sowie alle weiteren Aschenbestimmungen geschahen mit wenigstens 1 Grm. Substanz, durch sehr langsames Verkohlen und Extraction der Kohle, nebst deren Asche mit Wasser.

Es war nun beabsichtigt, die wiedergelöste Substanz fractionirt mit Alkohol zu fällen, doch zeigte sich das Hinderniss, dass schon eine geringe Menge davon die concentrirte Lösung in eine Gallerte verwandelte. Desshalb wurde die trockene Masse fractionirt mit Alkohol ausgezogen; zuerst mit 70percentigem (Fract. I), danach mit 60-percentigem und zuletzt mit solchem von 30Pct.; der ungelöste Rückstand ist als Fraction IV bezeichnet. Eine Erschöpfung des jeweiligen Rückstandes durch Alkohol fand nicht statt.

Diese Fractionen wurden, nach Abdunsten des Alkohols, über Schwefelsäure getrocknet und sollten nun auf etwaige Unterschiede in ihrem Verhalten untersucht werden.

Die Lösungen sämmtlicher Fractionen reagirten sauer, jedoch in ungleichem Grad; ihr Säuregrad wurde durch Titriren bestimmt und hiezu eine Lauge mit 0·01088 NaOH in 1 CC., als Indicator Lakmus und zwar in Form des Papiers benützt.

Die Lösungen waren 3percentige und wurden, um die während des Zusatzes der Lauge eintretende, sehr störende Trübung zu beseitigen, mit etwas Kochsalzlösung versetzt.

Zur polarimetrischen Bestimmung diente ein Wild'scher Apparat, der die Ablesung in zwei Quadranten gestattete; die Rohrlänge war 200 Mm., die Zimmertemperatur 17 bis 18° C., die Beleuchtung geschah durch eine Gasflamme.

Auch hiezu wurden 3percentige Lösungen verwendet.

Fraction I (Auszug mit 70percentigem Alkohol).

Leicht und vollständig im Wasser löslich; durch Eisen-, Kupfer-, Blei- und Silbersalze nicht im mindesten getrübt.

Durch wenige Tropfen concentrirter Kochsalzlösung entsteht ein beträchtlicher Niederschlag in der Eprouvette.

Die sechs Ablesungen am Wild'schen Apparat ergaben im Mittel 3·85° Linksdrehung.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

10 CC. der 3percentigen Lösung erforderten an Lauge im Mittel von zwei Bestimmungen 0·95 CC., entsprechend 0·0155 Grm. Essigsäure = 5·16 Pct. des Trockenrückstandes.

Fraction II. (Auszug mit 60percentigem Alkohol).

Abgelesen wurden im Mittel 3·86°.

10 CC. erforderten 0·93 CC. Lauge, entsprechend 0·0152 Essigsäure = 5 Pct. des Rückstandes.

Im Übrigen verhält sich diese Fraction genau wie die erste.

Fraction III. (Auszug mit 30percentigem Alkohol).

Mittelzahl der Ablesungen 3·98°.

20 CC. verlangten im Mittel 1·68 CC. Lauge, entsprechend 0·0274 Essigsäure = 4,5 Pct.

Ein weiterer Unterschied gegenüber den ersten Fractionen (in Bezug auf das Verhalten zu den angeführten Salzen und Bezug auf Löslichkeit) besteht nicht.

Fraction IV.

Dieser nach dem Extrahiren mit Alkohol zurückgebliebene Rest unterscheidet sich von den anderen Fractionen durch die nur theilweise Löslichkeit in Wasser; je öfter der Rest mit Wasser behandelt wird, um so weniger wird von demselben auch beim Erwärmen in Lösung gebracht, ohne dass eine Grenze zu bestimmen wäre, wann vom Wasser nichts mehr aufgenommen wird.

Die aufeinander folgenden Wasserauszüge reagiren immer weniger sauer, die Fällung durch Chlornatrium wird immer schwächer, die durch Metallsalze umgekehrt zunehmend stärker, doch so, dass beim Erwärmen wieder Aufhellung der trüben Flüssigkeit eintritt.

Der erste Wasserauszug, durch wiederholtes Filtriren geklärt und zu einer 3percentigen Lösung verdünnt, zeigte im Mittel von sechs Ablesungen eine Linksdrehung von 4·1°. 20 CC. verlangten im Mittel von drei Titrirungen 1·14 CC. Lauge, entsprechend 0·0186 Grm. Essigsäure = 3·1 Pct. des Rückstandes. Eine Zusammenstellung mag den Überblick erleichtern. Der Säuregrad, auf Essigsäure bezogen, ist in Percenten der Trockensubstanz und darunter der absolute Säuregehalt der Flüssigkeit (in 100 CC.) angegeben.

	I	II	III	IV
Säuregrad in Pct. .	5·16	5	4·56	3·1
Säure in 100 CC.	0·155	0·152	0·137	0·093
Ablenkung. .	3·85°	3·86°	3·98°	4·1°
Specifische Rotation . . .	67·6	67·8	69·4	70

Diese Übersicht und die Beachtung des Verhaltens der vierten Fraction zeigt, dass die Löslichkeit im Wasser und die Fällbarkeit durch Chlornatrium in geradem, die Fällbarkeit durch Metallsalze und das Drehungsvermögen in umgekehrtem Verhältniss zum Säuregrad stehen.

Die sämmtlichen Differenzen zwischen den drei ersten Fractionen und der vierten, nach dem Extrahiren mit Alkohol zurückgebliebenen, verschwinden sofort, wenn der Säuregehalt der letzteren durch Zusatz von etwas Essigsäure ergänzt wird.

Es wurde also die noch übrig gebliebene Hauptmasse der letzten Fraction, welche feucht auf Lakmus gebracht, dieses schwach röthete, mit sehr verdünnter Essigsäure auf dem Wasserbad erwärmt, und unter Zusatz kleiner Mengen Säure nach und nach in Lösung gebracht.

Da auf diese Weise der Säuregehalt der Lösung etwas hoch ausgefallen war, so wurde, um denselben mehr mit dem der früheren Fractionen in Einklang zu bringen, die Lösung für 2×24 Stunden in den Dialysator gebracht, und, nach Bestimmung des Rückstandes, ein Theil zu einer 3percentigen Lösung verdünnt.

Die Bestimmungen ergeben für diese Lösung folgende Werthe

Säure in Pct.	Säure in 100 CC.	Ablenkung.	Specif. Rotation.
5·4	0·162	3·87°	68·18

Der Werth für die specifische Rotation ist das Gesammtmittel aus zwei Reihen von Ablesungen mit je sechs Einzelbestimmungen, deren Mittel je 3·85° und 3·89° war. Hiernach

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

sind also auch die Unterschiede im Drehungsvermögen als vom Säuregrad abhängig anzusehen, so dass die Anwesenheit der Säure nicht blos einfach durch Verminderung des Gehaltes an activer Substanz sich geltend macht, sondern die Rotationsfähigkeit dieser selbst zu vermindern im Stande ist, ein Umstand, der schon für eine innigere Beziehung zwischen Säure und Eiweisskörper, wie sie im Folgenden näher begründet werden soll, zu sprechen vermag.

Die an den vier Fractionen gemachten Beobachtungen ergaben also die vollständige Abhängigkeit der Unterschiede ihres Verhaltens vom Säuregehalt, und damit die Uebereinstimmung derselben gegenüber den in Anwendung gebrachten Prüfungsmethoden.

Zu dem gleichen Resultate gelangt man in mehr directer Weise, wenn die Fractionirung statt in der angegebenen Weise, durch fractionirte Fällung mit Essigsäure und Kochsalz vorgenommen wird.

Hat man die kleinen Differenzen im Säuregehalt der dialysirten Lösungen ausgeglichen, so zeigen diese unter sich und mit den ersten beiden Fractionen obiger Tabelle eine solche Übereinstimmung, dass weder mit den genannten chemischen Agentien, noch durch den Polarisationsapparat irgend welche wesentlichen Differenzen erkennbar sind.

Ich habe es absichtlich vermieden, einen absoluten Werth für die specifische Rotation aufzustellen, nicht sowohl wegen der fehlenden Vervollkommnungen an dem gegenwärtig disponiblen Apparat, als besonders, weil an solchen Lösungen die Vorbedingungen hiezu allzuviel zu wünschen übrig lassen und eine Anzahl an sich geringfügiger Ungenauigkeiten sich ohne Zweifel allzusehr summiren, um einer derartigen Berechnung grossen Werth zu verleihen.

Es ist bisher ohne Weiteres die Annahme gemacht worden, dass die sauere Reaction der Lösungen durch die Gegenwart von Essigsäure bedingt sei, was nach der Darstellungsart und dem Einfluss der Säure auf Fraction IV auch erlaubt schien.

Erwägt man aber gerade die Art der Darstellung, die viertägige Dialyse, welche den Aschegehalt auf kaum 2 pro mille herabbrachte und trotzdem, im Widerspruch mit dem allgemeinen

Verhalten von Säuren und Salzen bei der Dialyse, einen relativ hohen Säuregehalt bestehen liess, so kann man sich nicht der Annahme entziehen, dass entweder die Essigsäure-Kochsalz-Fällung eine Essigsäureverbindung ist, oder dass dem gefällten Eiweisskörper an sich sauere Reaction zukomme.

Diese letztere Möglichkeit muss schon deshalb ins Auge gefasst werden, weil bekanntlich zahlreiche Angaben vorliegen, nach welchen verschiedenen Eiweisskörpern, sei es in Lösung oder im coagulirten Zustand, sauere Reaction zugeschrieben wird.

Ich erinnere nur aus neuerer Zeit an die Acid- und Alkalialbuminate von Mörner[1], von denen zumal die letzteren stark sauer reagirten; an die verschiedenen Eiweissgruppen Danilewski's, deren Trennung zum Theil auf der verschiedenen Reaction und der verschiedenen Löslichkeit in Alkohol beruht und gerade an das hier beobachtete Verhalten der vier Fractionen auffallend erinnert.

Die Frage kann durch einen einfachen Versuch entschieden und dadurch nachgewiesen werden, dass der Hemialbumose eine bedeutende Neigung zukommt, mit den verschiedensten Säuren eigenthümliche Verbindungen einzugehen, so dass es auffallend erscheint, wie diese Verhältnisse sich bisher so vollständig der Beachtung haben entziehen können. Und doch liefert gerade diese energische Neigung der Hemialbumose den Schlüssel zur Lösung der meisten Widersprüche in den bisherigen Angaben über das Verhalten und die Natur dieses Eiweisskörpers. Der Versuch wird, um diese Beziehungen überhaupt zur Anschauung zu bringen, am kürzesten in folgender Weise angestellt.

Eine etwas concentrirtere, saure Lösung von Hemialbumose, durch wiederholtes Ausfällen gereinigt, wird möglichst genau neutralisirt, mit einer gemessenen Menge einer Säure von bekanntem Gehalt und darauf mit so viel Kochsalz versetzt, dass ein reichlicher Niederschlag entsteht.

Dieser wird auf einem Filter gesammelt und mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, bis diese neutral abfliesst, worauf,

---

[1]) A. H. Mörner: Studier öfver Alkalialbuminat och Syntonin. Upsala Läkareförenings Förhandlingar 12.$_{475}$. Nach Jahresbericht der Thierchemie Bd. 7. pag. 6.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

um das anhaftende Salz von Filter und Niederschlag zu entfernen, mit etwas 10percentiger Salzlösung nachgewaschen wird.

Wird nun der Säuregehalt des Filtrats bestimmt, so findet man in diesem nur einen Theil der zugesetzten Säure, je nach der Menge der in der Lösung vorhanden gewesenen Hemialbumose und je nach dem zugesetzten Säureüberschuss.

Der fehlende Rest der Säure aber wird als Lösung genau in der des Niederschlages aufgefunden.

Die Ausschläge sind stets sehr bedeutend, wie spätere quantitative Versuche dieser Art zeigen werden; ja es kann, wenn man auf vollständige Ausfällung verzichtet, der Versuch in der Weise angeordnet werden, dass das Filtrat kaum sauer reagirt, während ein Theilchen des Präcipitats, mit Wasser abgespült und dann gelöst, Lakmus so grell röthet, wie ein Tropfen der reinen Säure. Der Niederschlag hat also in diesem Fall die zugesetzte Säure nahezu vollständig aufgenommen.

Dieser Versuch, mit verschiedenen Säuren angestellt, fällt stets in gleicher Weise aus; er beweist, dass es sich hier um Verbindungen der Hemialbumose mit Säuren handelt.

Säure-Hemialbumosen.

Bei der Darstellung ist es gerathen, einige Kautelen einzuhalten, theils um die Beziehungen der Säure zur Hemialbumose besser hervortreten zu lassen, theils um keine unnöthigen Mengen von Chlornatrium in den Niederschlag zu bekommen und so die Dialyse über einen allzugrossen, fäulnissgefährlichen Zeitraum verlängern zu müssen.

Da die Ausfällung der Hemialbumose auf dem Zustandekommen einer in starker Kochsalzlösung unlöslichen Säureverbindung beruht, so scheint es zweckmässig, beide Bestandtheile hienach zu reguliren.

Ist daher der Gehalt einer Lösung an Hemialbumose ungefähr bekannt, so ist zur Erzielung der grösstmöglichen Ausbeute eine Säuremenge von etwa 8—10 Pct. der als Trockenrückstand bestimmten Hemialbumose zweckdienlich. Diese Menge genügt einerseits vollständig zur Ausfällung und bedingt anderseits keinen Verlust, der übrigens bei Anwendung von Salz-

säure weniger zu fürchten ist als bei grösserem Überschuss von Essigsäure.

An Kochsalz ist unter diesen Umständen keine Sättigung der Flüssigkeit nothwendig, sondern ein Gehalt von 21 Grm. auf 100 CC. ausreichend.

Die Hauptmasse der Säure-Hemialbumose scheidet sich hiedurch in der bekannten Form des compacten Klumpens aus, ein kleiner Theil bleibt mehr flockig. Nach dem Absetzen wird durch ein Filter decantirt und mit gesättigter, später mit 10percentiger Kochsalzlösung gewaschen. Dieser Niederschlag zieht sich im Laufe der nächsten Stunden immer mehr zusammen und presst die eingeschlossene Salzlösung so vollständig aus, dass er sich jetzt ohne Weiters meist klar im Wasser auflöst; aus dieser Lösung wird, eventuell mehrmals, die Säureverbindung wieder durch Chlornatrium abgeschieden, jedoch ohne weiteren Säurezusatz. Man kann die Ausfällung aus solchen Lösungen durch Kochsalz allein beliebig oft bewirken, ohne wesentliche Einbusse am Säuregehalt der ausgeschiedenen Säureverbindung.

Bei dieser Gelegenheit verdient eine Eigenthümlichkeit der Hemialbumose Erwähnung, welche sich wiederholt unter ganz verschiedenen Umständen geltend macht. Es findet nämlich ein wesentlicher Unterschied statt, ob eine bereits ausgeschiedene Säure-Hemialbumose mit einer 10percentigen Kochsalzlösung behandelt wird, oder ob eine klare, wässerige Lösung derselben auf einen solchen Salzgehalt gebracht wird. Während im ersten Fall, selbst nach 24stündigem Digeriren der ausgeschiedenen Säureverbindung mit 10percentiger Salzlösung die letztere vollkommen ihre neutrale Reaction behält, ist die Ausfällung aus einer Lösung der Säure-Hemialbumose durch Zusatz von Chlornatrium bis zu jenem Gehalt eine sehr unvollständige; der Salzgehalt muss vielmehr, um unter diesen Umständen die Ausscheidung möglichst vollkommen zu gestalten, auf etwa 21 Grm. in 100 CC. gebracht werden.

Eine quantitative Ausfällung findet aber selbst bei Sättigung mit Kochsalz und irgend welchem Säuregehalt nicht statt, mindestens einige Tausendtheile bleiben stets in Lösung, ein Umstand, der bei der Trennung der Hemialbumose vom Pepton wohl ins Gewicht fällt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ein gewisser Überschuss an Säure, zumal an Salzsäure, ist hiebei ohne Nachtheil; derselbe müsste schon ein sehr viel grösserer sein, als er hier in Anwendung kommt, sei es dass man eine berechnete Menge (etwa 10 Pct. vom Gewicht der Hemialbumose) hinzufügt, oder einfach so viel, als in der auf genannten Salzgehalt gebrachten Flüssigkeit noch Fällung bewirkt und schliesslich gerade deutlich sauere Reaction erhält.

Um bei Anwesenheit von 10 Pct. Chlornatrium die lösende Wirkung eines grösseren Säureüberschusses zur Erscheinung zu bringen, muss die Flüssigkeit längere Zeit erwärmt werden; dann erst geht ein beträchtlicher Theil der Hemialbumose trotz NaCl in Lösung und zwar mit der bekannten braunvioletten Farbe des Acidalbumins.

Mit Herabsinken des Salzgehaltes unter 10 Pct. wird die Ausfällung fortschreitend unvollständiger, aber auch gegenüber diesen salzarmen Lösungen macht sich noch deutlich das verschiedene Verhalten der in Lösung befindlichen und der ausgeschiedenen Hemialbumose geltend.

Gegenüber dem Kochsalz- und Säuregehalt einer Lösung kommt derjenige an Hemialbumose nur wenig in Betracht, höchstens insofern, als in sehr verdünnten Lösungen bisweilen die Ausscheidung in Form einer milchigen Trübung erfolgt, die sich schwer absetzt und leicht durchs Filter geht.

Die fast klare Lösung der auf solche Weise ausgeschiedenen Säureverbindung verliert ihren geringen Salzgehalt schon nach 2 bis 3×24 Stunden so gut wie vollständig durch die Dialyse und behält einen bestimmten Säuregehalt, auch wenn die Dialyse über jenen Zeitpunkt hinaus noch mehrmals 24 Stunden fortgesetzt wird; die Lösung in der Zelle bleibt klar und stark sauer. Durch noch länger fortgesetzte Dialyse kommt endlich eine Trübung des Zelleninhaltes zu Stande, doch kommt es eher zur Fäulniss, als sich auf diese Weise ein nennenswerther Niederschlag bildet und dann zeigt selbst dieser, ebenso wie die trübe, darüber stehende Flüssigkeit noch sauere Reaction.

Fällt man eine solche, durch protrahirte Dialyse trübe gewordene Flüssigkeit mit Alkohol, so erhält man hiedurch ein Präparat, das sich ganz übereinstimmend mit der oben angeführten vierten Alkoholfraction verhält. Es sind dies eben Säure-

hemialbumosen mit ungenügendem Säuregehalt. Solche trübe Lösungen lassen sich nicht durch Filtriren klären; ebensowenig durch Erwärmen und durch Einengen, oder durch Zusatz von Chlornatrium.

Die hier für die Dialyse angegebenen Zeiträume sind natürlich keine unveränderlichen zur Erreichung eines bestimmten Zustandes der Lösung, da sie durch verschiedene Umstände, wie die Häufigkeit des Wasserwechsels, Höhe der Schichte, Beschaffenheit der Membran etc. einigermassen beeinflusst werden. Die von mir bei diesen Versuchen eingehaltene Höhe der Flüssigkeitssäule in den Ringdialysatoren betrug etwa 0·5 bis 1 Cm.

Zum Schluss der Darstellung wird der klare Inhalt der Zelle zum dünnen Sprung eingeengt und mit Alkohol von etwa 96 Pct. gefällt. Dabei geht ein geringer Theil in den Alkohol über, nach Massgabe der entstandenen Verdünnung, während die Säurehemialbumose in Alkohol von jener Stärke unlöslich ist, und daher nach kurzem Waschen des Niederschlages mit solchem nichts mehr an denselben abgibt.

Da jede Säurehemialbumose gewisse Eigenthümlichkeiten besitzt und der Betrachtung ihre Vortheile bietet, so seien die einzelnen Darstellungen hier angeführt.

a) Essigsäure-Hemialbumose.

Diese eignet sich besonders, um das eigenthümliche Verhalten bei der Dialyse hervortreten zu lassen.

Präparat 1 war mehrmals aus seiner Lösung ausgefällt und 3×24 Stunden der Dialyse unterworfen, bis in dem seit 6 Stunden nicht gewechselten Aussenwasser die Chlorreaction ausblieb, danach eingeengt und mit Alkohol gefällt worden.

Das bei 105° C. getrocknete Pulver enthielt an Asche 0·42 Pct.

1·305 Grm. gaben in Wasser lössliche Asche 0·003 (= 0·23 Pct.)
1·305 Gesammtasche 0·005 (= 0·42 Pct.)

Dasselbe enthielt an Essigsäure 5·46 Pct.

10 CC. einer klaren Lösung des exsiccatortrockenen Pulvers gaben bei 105° C. einen Rückstand von 0·433 Grm.

10 CC. derselben Lösung erforderten an Lauge im Mittel von 3 Bestimmungen 1·45 CC. entsprechend 0·02366 Essigsäure (= 5·46 Pct.)

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Präparat 2 verlor das Chlornatrium nach 3×24 Stunden durch die Dialyse; letztere wurde hierauf noch $1^1/_2 \times 24$ Stunden unterhalten und danach wie bisher verfahren.

Die Asche betrug 0·23 Pct. fast ganz in Wasser unlöslich; der Säuregehalt 4·86 Pct. an Essigsäure.

Präparat 3 genau ebenso gewonnen, nur wurde die dialysirte Lösung blos etwas eingeengt und direct untersucht.

Aschengehalt des Trockenrückstandes: 0·2 Pct., fast ohne in Wasser lösliche Bestandtheile.

Gehalt an Essigsäure: 5·1 Pct.

Die beiden letzten Präparate stammten von der fractionirten Essigsäure-Kochsalzfällung.

Nimmt man hiezu die beiden oben angeführten ersten Alkoholfractionen mit dem Essigsäuregehalt von 5·16 und 5·1 Pct., so bilden diese Präparate eine Reihe sehr nahe übereinstimmender Glieder.

Trotzdem zeigt schon die dritte Alkoholfraction, dass auch ein beträchtlich geringerer Säuregehalt die Eigenschaften einer Lösung nicht wesentlich verändert; umgekehrt werden sie es auch nicht durch Erhöhung des Säuregehaltes und es wird diese grössere Säuremenge auch bis zu einer gewissen Grenze beim Trocknen festgehalten.

Alle die angeführten Präparate wurden bei 105° C auf constantes Gewicht gebracht, bei mehreren alsdann die Temperatur durch einige Stunden auf 110° und selbst auf 115° C. gehalten; auch jetzt lösten sich stets die Rückstände klar in Wasser und erforderten genau oder nahezu dieselbe Menge Lauge, wie ein entsprechender Theil der ursprünglichen Lösung.

Um nun den Einfluss der Säure genauer festzustellen, wurde statt der Essigsäure die quantitativ leichter verfolgbare Salzsäure gewählt und genau auf schon beschriebene Weise eine Salzsäure-Hemialbumose hergestellt.

b) Salzsäure-Hemialbumose.

Bei der Darstellung begegnet man hier der Schwierigkeit, das sich die Dauer der Dialyse nicht so bequem markiren lässt, wie dies bei der Essigsäureverbindung durch das Ausbleiben der Chlorreaction im Aussenwasser der Fall ist; doch unterliegt es

nach den bei letzterer gemachten Erfahrungen keinem Zweifel, dass die Zeit von 3 bis 4×24 Stunden auch hier vollständig ausreicht, um das Kochsalz bis auf Spuren zu entfernen und eine Lösung von annähernd constanter Beschaffenheit zu erhalten. Hiefür sprechen auch die Resultate der Aschenbestimmungen.

Auch hier bemerkt man übrigens schon nach 2 bis 3×24 Stunden, vorausgesetzt, dass die Lösung bereits klar, also schon sehr salzarm in die Zelle gebracht wird, dass die Chlorreaction im Aussenwasser nach jener Zeit sehr gering wird und dieses immer weniger auf Lakmus einwirkt.

Es wurden so in mehreren Einzeldarstellungen verschiedene Präparate von Salzsäure-Hemialbumose hergestellt und an diesen zunächst bestimmt:

Aschegehalt und Säuregrad dialysirter Lösungen.

Präparat 1. Nach 4×24 stündiger Dialyse wird die klare Lösung eingeengt und mit Alkohol gefällt.

1·227 Grm. des bei 10° C. getrockneten Pulvers gaben 0·003 Grm. in Wasser unlösliche, fast keine lösliche Asche. Gesammtasche = 0.24 Pct.

10 CC. einer klaren Lösung des exsiccatortrockenen Pulvers gaben 0·489 Gr. Trockenrückstand (bei 105° C.)

10 CC. dieser Lösung erforderten im Mittel von 3 Titrirungen 1·4 CC. Lauge, entsprechend 0·01388 HCl.

Säuregehalt sonach 2·8 Pct. des Trockenrückstandes.

Präparat 2. Dialyse 3×24 Stunden; Lösung wird eingeengt und direct verwendet.

5 CC. gaben Rückstand 1·6053; dieser enthielt 0·0053 Gr. unlösliche Asche (=0·185 Pct.) und 0·003 Gr. lösliche Asche (=0·145 Pct.); somit Gesammtasche 0·33 Pct. des Rückstandes.

5 CC. dieser Lösung verlangten im Mittel von 3 Titrirungen, welche an der auf das Dreifache verdünnten, mit etwas NaCl versetzten Lösung geschahen, 5·9 Lauge entsprechend 0·058 HCl.

Säuregehalt 3·6 Pct. des Rückstandes.

Präparat 3. Dialyse $3^1/_2 \times 24$ Stunden, Lösung direct verwendet.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Aschegehalt 0·3 Pct.

Säuregehalt des Rückstandes 3·3 Pct.

Aus diesen Beobachtungen ziehe ich den Schluss, dass es durch möglichste Einhaltung derselben Bedingungen nicht schwer sein dürfte, grössere Reihen von Präparaten der Salzsäure- oder Essigsäure-Hemialbumose zu erhalten mit gleichem Säuregehalt, dass aber, so wenig über die wesentlichen und eigenthümlichen Beziehungen zwischen Säure und Hemialbumose ein Zweifel stattfinden kann, dennoch auf dem beschriebenen Wege keine constanten Verbindungen erhalten werden können.

Da, wie bereits erwähnt, eine beträchtliche Verminderung des Säuregehaltes dennoch das Verhalten der Lösungen nicht wesentlich zu verändern im Stande ist, bei gleichbleibendem Verhältniss der übrigen Bestandtheile, so lag es nahe, das Säureminimum festzustellen, welches gerade noch eine Lösung von typischer Beschaffenheit, d. h. jegliche Concentration, resp. Verdünnung vertragend, zu bilden im Stande ist.

Hiefür boten sich verschiedene Wege, von denen aber jeder seine Bedenken hat.

Wollte man die Säure einfach abstumpfen, bis die Lösung ihre Klarheit zu verlieren beginnt, so wäre das Resultat insofern trügerisch, als dadurch ein neuer Factor in Rechnung käme, nämlich das entstandene Neutralsalz, dessen Einfluss unter gewissen Bedingungen später zur Sprache kommen wird.

Man könnte nun eine solche Lösung so lange der Dialyse unterziehen bis sich die erste Trübung zeigt und durch Zusatz der geringsten Menge titrirter Säure die Aufhellung herbeiführen. Auch dieses Verfahren gibt kein vollständig sicheres Resultat, indem sich hiebei die erste Andeutung einer Eigenthümlichkeit der Hemialbumose bemerklich macht, der wir später unter anderen Umständen noch wiederholt begegnen werden und die darin besteht, dass dieselbe Menge eines Lösungsmittels, welche genügt, eine bestimmte Quantität Hemialbumose in Lösung zu halten, nicht mehr im Stande ist, die einmal Ausgeschiedene wieder in Lösung überzuführen. Da es sich bei diesen durch protrahirte Dialyse entstandenen Trübungen nicht um reine Hemialbumose, sondern um eine Säurehemialbumose mit unzureichendem Säuregehalt handelt, so machen sich die genannten Störungen hiebei

allerdings nicht entfernt in dem Grade geltend, als bei dem Versuch, eine ausgeschiedene reine Hemialbumose in neutrale Lösung zu bringen.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse habe ich die Entscheidung auf folgendem Mittelweg gesucht.

Zwei gleiche Volumina einer auf mehrerwähnte Weise bereiteten kochsalzarmen Lösung wurden auf zwei Ringdialysatoren mit fast gleicher Grundfläche vertheilt und unter gleichen Umständen im kalten Raum der Dialyse unterworfen; nur wurde die eine Portion 24 Stunden später in die Zelle gebracht als die andere.

Nach $6^1/_2 \times 24$ Studen hatte sich der Inhalt der zuerst beschickten Zelle getrübt, der von Zelle 2 war klar geblieben. Die Dialyse wurde gleichzeitig unterbrochen.

Der klare Inhalt von Zelle 2 wurde etwas eingeengt.

10 CC. desselben lieferten bei 105° C. 1·432 Gr. Rückstand.
dieser lieferte 0·003 Gr. unlösliche Asche, somit
Gesammtasche =0·21 Pct.

10 CC. erforderten im Mittel von 3 Bestimmungen 3 CC. Lauge, entsprechend 0·0297 HCl.

10 CC. derselben Lösung wurden mit chlorfreier Soda eingedunstet, zur Trockne gebracht, verkohlt, Kohle mit Wasser extrahirt und unter successivem Zusatz kleinster Mengen reinen Salpeters verbrannt. Aus der wässerigen Lösung wurde das Chlorid mit Silberlosung gefällt. Es wurden erhalten 0·1053 Gr. AgCl=0·0268 HCl.

Es waren also auf Percente des Rückstandes berechnet
an HCl titrirt = 2·07 Pct.
gewogen = 1·87 Pct.

Diese Lösung verhielt sich vollständig wie die mit höherem Säuregehalt.

Der trübe Inhalt der ersten, um 24 Stunden früher eingesetzten Zelle wurde filtrirt, liess jedoch auf dem Filter kaum einen Rückstand, so dass das Filtrat eine sehr gleichmässige feine Emulsion darstellte.

Erscheinungen von Fäulniss waren sicher ausgeschlossen.

80 CC. der trüben Flüssigkeit wurden erwärmt und tropfenweis eine Salzsäure mit dem Titre 1 CC. = 0·08 HCl zugesetzt;

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

0·2 CC. führten vollkommene Klärung herbei.

20 CC. der klaren Lösung gaben Rückstand 0·513 Gr.
20 CC. erforderten, unter Zusatz von etwas NaCl titrirt
1·1 CC. Lauge, entsprechend 0·011 HCl.
die zugefügte Salzsäure betrug 0·004 HCl.

Den 0·513 Gr. der trüben Lösung entsprachen 0·007 HCl.

Der Gehalt an HCl, auf Procente des Trockenrückstandes berechnet, betrug somit für die geklärte Lösung 2·1 Pct.; für die trübe Flüssigkeit 1·4 Pct. HCl; der letztere war also unzureichend, um eine klare Lösung der Hemialbumose zu vermitteln.

Beim Titriren der geklärten Lösung machte man ferner die Beobachtung, dass die erste Trübung sich nach Zusatz von 0·2 CC. Lauge einstellte (von der Lauge 1 C. C. = 0·00992 HCl).

Zu diesem Zeitpunkt ist das Verhältniss der Bestandtheile folgendes:

20 CC. mit 0.513 Hem. + 0·0110 HCl
Lauge 0·15 CC. — 0·0015 HCl + 0·0024 NaCl

20·15 CC. mit 0·513 + 0·0095 + 0·0024

100 CC. mit 2·5 Hem. + 0·047 HCl + 0·011 NaCl.

Nach diesem Versuch bildet also ein Säuregehalt von 1·85 Pct. der Trockensubstanz die Grenze, die auch durch den sehr geringen, Salzgehalt nicht wesentlich beeinflusst sein dürfte.

Das Mittel aus diesem dreifachen Versuch stimmt hiemit nahe überein und wäre also ein Säuregehalt entsprechend 1·8 Pct. HCl das gesuchte Säureminimum für eine typische Lösung der Säure-Hemialbumose.

Dass diese Verhältnisse sich ohne Bedenken auf die Essigsäure-Hemialbumose übertragen lassen, darf wohl aus der grossen Übereinstimmung, welche diese bisher unter gleichen Bedingungen mit der Salzsäurehemialbumose gezeigt hat, geschlossen werden.

Nach den bisher gemachten Beobachtungen erschien es zunächst von Wichtigkeit, die Säuremenge, welche die Hemialbumose unmittelbar bei der Ausfällung durch Säure und Kochsalz aufzunehmen vermag, eventuell das Maximalbindungsvermögen festzustellen.

Verhalten nicht dialysirter Lösungen. Säuremaximum.

Bei den folgenden quantitativen Versuchen wurden Lösungen benützt, deren mittlerer Gehalt an organischer Substanz und Asche, respective an Säure stets durch mehrere Bestimmungen ermittelt war.

1. Versuch. Concentration der Lösung in 100 CC = 20 Hemialbumose und 1·23 NaCl. 20 CC. derselben wurden mit einer Salzsäure vom Titre 1 CC. = 0.08 HCl und darauf mit Chlornatrium bis zu einem Gehalt von 21 Gr. auf 100 CC. versetzt, der entstandene Niederschlag mit gesättigter und schliesslich mit zehnpercentiger Kochsalzlösung gewaschen.

Das Filtrat sammt Waschflüssigkeit betrug 106 CC. 20 CC. desselben verlangten im Mittel 3·4 CC. Lauge.

Der zugesetzten Säure entsprachen 40 CC. Lauge = 0·4000 HCl

Dem Gesammtfiltrat entsprachen 18 CC. Lauge = 0·1785 HCl

der ausgefällten Hemialb. also 22 CC. Lauge = 0·2215 HCl

10 CC. des Filtrats, neutralisirt, lieferten an Gesammtrückstand . = 2·3756 Grm.
hierin Aschenbestandtheile = 2·3446 Grm.

Organische Substanz = 0·0310 Grm.

An organischer Substanz (Hemialbumose) befanden sich somit im Gesammtfiltrat 0·328 Grm.

Ausgefällt waren also von den 4 Grm., die sich in den 20 CC. der ursprünglichen Lösung befanden . 3·670 Grm.
und diese hatten 0·2215 HCl aufgenommen d. i. 5·66 Pct.

Der Niederschlag wurde in 95 CC. Wasser gelöst
10 CC. dieser Lösung erforderten im Mittel 2·3 CC. Lauge
Die Gesammtlösung somit 21·88 CC. Lauge = 0·216 HCl
20 CC. gaben Trockenrückstand 1·117 Grm.
Dieser enthielt Asche 0·290 „

somit organische Substanz 0·827 Grm.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die 95 CC. enthielten an organischer Substanz (Hemialbumose) 3·920 Grm. und diese hatten wieder 0·216 Grm. HCl=5·5 Pct. aufgenommen.

In diesem Versuch wurde quantitativ die ursprünglich zugesetzte Säuremenge in Filtrat und Niederschlag wieder gefunden und der auf die ausgefällte Hemialbumose entfallende Theil im Mittel aus beiden Controlbestimmungen zu 5·58 Pct. berechnet.

Die ausgefällte Säure-Hemialbumose war also eine solche mit 5·3 Pct. HCl.

2. Versuch. Concentration der Lösung in 100 CC. = 16·3 Hemialbumose und 5·7 NaCl. 20 CC. derselben wurden mit NaCl in Substanz versetzt bis der Gehalt 10:100 CC. entsprach. Durch Zusatz von 4·5 CC. Salzsäure (=0·36 HCl) entstand der bekannte, compacte Niederschlag. Der Salzgehalt wurde sodann durch gesättigte Kochsalzlösung auf 21 Grm.: 100 CC. gebracht, im Übrigen wie oben verfahren.

Das Filtrat betrug 129 CC., verlangte Lauge 17·8 CC. =0·1765 HCl.
Es enthielt an organischer Substanz 0·23 Grm.[1]

Die Fällung betraf von den ursprünglich in 20 CC. vorhandenen 3·2 Grm. Hemialbumose =3·00 Grm. Die von diesen 3 Grm. aufgenommene Säure betrug also entsprechend 18·2 CC. Lauge =0·1805 HCl

woraus die Rechnung eine Salzsäure-Hemialbumose mit 5·66 Pct. HCl ergibt.

Bei den weiteren Versuchen wurde das Verfahren in der Weise vereinfacht, dass eine beliebige, concentrirtere Lösung, zumeist einer Salzsäure-Hemialbumose, durch Säureüberschuss und Kochsalz ausgefällt wurde und zwar, um jeden grösseren Salzgehalt zu vermeiden, durch Zusatz von nur soviel gesättigter Kochsalzlösung, dass gerade der zähe compacte Niederschlag entstand. Dieser wurde sodann herausgehoben, mit gesättigter,

[1] Bei solchen Berechnungen wurden gewisse Vereinfachungen, sofern das Endresultat hiedurch nur in der zweiten Decimale verändert wurde, für zulässig gehalten.

danach mit zehnpercentiger Salzlösung gewaschen und schliesslich gut abgepresst.

Es wurde also auf eine vollständige Ausfällung verzichtet, dafür aber leicht eine stets klare Lösung mit sehr geringem Salzgehalt erzielt, von der dann im aliquoten Theil der mittlere Säuregehalt, in einem andern der Trockenrückstand und in diesem jedesmal die Asche bestimmt wurde.

3. Versuch ergab auf diesem Wege eine Säurehemialbumose mit 5·2 Pct. HCl;
4. Versuch eine solche mit 5·5 Pct.
5. Versuch mit 5·2 Pct.

Nachdem ich wiederholt beobachtet hatte, dass aus einer Lösung der Hemialbumose mit Säureüberschuss, wenn diese längere Zeit erwärmt und warm durch NaCl gefällt wurde, die Säurehemialbumose nicht in jener compacten Form, sondern mehr weich, teigig, sich ausschied, war zu vermuthen, dass diese abweichende Beschaffenheit auf einem andern Säuregehalt beruhen könne, was sich in der Folge bestätigte.

Eine solche fadenziehende, mehr kleisterartige Ausscheidung, auf die bei den letzten Versuchen angewandte Weise untersucht, hatte einen Gehalt an HCl von 6·6 Pct.

Ein anderes Präparat enthielt 6 Pct. HCl.

Es gelingt jedoch nicht jedesmal sicher, auf die angeführte Weise diese weiche Beschaffenheit und damit den höheren Säuregehalt zu erzielen, während die compacte Form stets prompt zu erhalten ist.

Es ergibt sich auch hieraus, gleichwie bei den dialysirten Lösungen eine ziemlich nahe Übereinstimmung der auf conforme Weise dargestellten Präparate.

Immerhin ist diese Übereinstimmung keine vollständige, und geringe Abweichungen des Verfahrens genügen, um das Verhältniss zwischen Säure und Eiweisskörper bedeutend zu verändern.

Wird ausserdem berücksichtigt, dass durch die Dialyse es zwar nicht gelingt, der Hemialbumose die Säure ganz zu entziehen, vielmehr ein gewisser Gehalt an solcher hartnäckig festgehalten wird, dass man aber auf diese Weise successive solche Säure-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

verbindungen mit beliebigem Säuregehalt herstellen kann, so glaube ich nicht zur Annahme berechtigt zu sein, dass hier Verbindungen nach constanten Gewichtsverhältnissen vorliegen, sondern dass vielmehr der Hemialbumose nur die besondere Eigenschaft zukommt, verschiedene Mengen Säure bis zu einer gewissen Maximalgrenze anzuziehen, in lockerer Weise chemisch zu binden.

Die Hemialbumose unterscheidet sich hierin nur graduell vom genuinen Eiweiss, das eben durch die Einwirkung von Alkalien und Säuren allmählig diese Fähigkeit in immer höherem Masse erlangt.

Verhalten der Lösungen zu NaCl.

Dieses gehört zu jenen Eigenthümlichkeiten der Hemialbumose, welche von jeher am meisten die Aufmerksamkeit der Beobachter auf sich gezogen hat und den vielfachen Wechsel der Erscheinungen veranlasst, welcher vorzugsweise geeignet ist, die Eigenschaften der eigentlichen, der reinen Hemialbumose zu verdecken.

Säuren auf der einen, Kochsalz auf der andern Seite haben der Hemialbumose gegenüber in ihren Einzelwirkungen eine doppelte Rolle: die eines Lösungs- und eines Fällungsmittels; das Zusammenwirken dieser 3 Factoren — Kochsalz, Säure, Hemialbumose — ist in ihrem Endeffekt vollständig abhängig von den Mengenverhältnissen jedes einzelnen.

Säure und Salz schliessen sich in einer Lösung der Hemialbumose keineswegs aus; aber die Anwesenheit des einen in einer durch den andern Bestandtheil vermittelten Lösung hat ihre bestimmten Grenzen, jenseits deren eine solche Lösung zunächst in ihren Eigenschaften, zumal den physikalischen verändert und schliesslich gefällt wird. Niemals findet eine gegenseitige Ergängung der lösenden Wirkung beider Komponenten statt, es ist stets der eine neben dem andern sozusagen blos geduldet, und jedes stört die Wirkung des andern im Allgemeinen um so mehr, je mehr die ursprünglichen Verhältnisse einer gegebenen Lösung sich bereits ihren Grenzen nähern. Durch willkürliche Änderung der Bestandtheile einer solchen Lösung kann daher das Verhalten derselben nach Belieben geändert werden.

Der Kochsalz-Säureniederschlag zeigt bekanntlich die oft beschriebene Eigenthümlichkeit, mit heissem Wasser eine klare Lösung zu geben, welche beim Abkühlen sich wieder trübt, beim Erwärmen wieder aufhellt u. s. f.

Dieses ganze Verhalten kommt aber weder der sauren noch der reinen Kochsalzlösung zu, sondern ist vielmehr ausschliesslich die Wirkung eines Neutralsalzes auf die Lösung der Säurehemialbumose und kann daher nach Willkür zum Verschwinden gebracht und wieder hervorgerufen werden durch Änderung des Gehaltes der Flüssigkeit an NaCl (respective einem andern Neutralsalz), oder bei gleichbleibendem Salzgehalt an Säure.

Jede rein wässrige Lösung von Säurehemialbumose verträgt einen gewissen Salzgehalt ohne trüb zu werden, ebenso wie jede Lösung durch NaCl eine gewisse Menge Säure; je mehr dabei aber der Zustand der Flüssigkeit sich jener Grenze nähert, bei der eine gegebene Menge Hemialbumose nicht mehr in Lösung bestehen kann, um so mehr verliert sie den Charakter einer echten Lösung; sie wird schwerer filtrirbar und zunehmend opalescirend, so dass eine bei durchfallendem Licht noch vollkommen klare Lösung bei auffallendem bereits grau und milchig trüb erscheinen kann, bis endlich die Grenze zwischen starker Opalescenz und Trübung gar nicht mehr zu bestimmen ist.

An solchen Lösungen nun begegnen wir unter geeigneten Verhältnissen auch zum erstenmale jener eigenthümlichen Erscheinung, deren Kühne in der citirten Abhandlung über die Harnhemialbumose zuerst Erwähnung gethan hat, nämlich der Eigenschaft gewisser Lösungen der Hemialbumose bei 40—50° C. sich zu trüben.

Die hier zunächst in Rede stehenden, Säure und NaCl enthaltenden, stark opalescirenden Lösungen, welche ebenfalls die Trübung bei gelinder Wärme zeigen, klären sich hierauf bei erhöhter Temperatur wieder, wobei dann auch die Opalescenz mehr weniger vollständig verschwindet, je nachdem der Salzgehalt von dem zur definitiven Trübung nöthigen sich entfernt hält; beim Wiederabkühlen aber kehrt jetzt nicht mehr der frühere Zustand der Flüssigkeit zurück, vielmehr hat nun eine ausgesprochene Trübung der früheren Opalescenz Platz gemacht.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

In diesem Falle wurde also — eine prägnante Analogie mit einer genuinen Eiweisslösung — die Ausscheidung der Hemialbumose durch Erwärmen der Flüssigkeit befördert; was ausfällt, ist Säurehemialbumose.

Man kann diese Erscheinung an vollkommen klaren und auch klar bleibenden Lösungen beobachten, man findet sie aber besonders auffallend und schon bei Temperaturen unter 30° C. eintretend bei solchen Lösungen, welche vermöge der sehr knapp an der Grenze sich haltenden Mengenverhältnisse ihrer Bestandtheile, oft nur eine gewisse Zeit hindurch klar bleiben, früher oder später aber sich von selbst trüben.

Es sind dies naturgemäss nicht blos sehr concentrirte, an Hemialbumose reiche Lösungen, deren Salz- und Säuregehalt bis nahe an die Fällungsgrenze vermehrt wurde, sondern auch sehr verdünnte mit einem bis nahe an den Punkt verminderten Gehalt an Lösungsmittel, wo derselbe ungenügend zu werden anfängt.

Lösungen der ersten Art bekommt man oft beim raschen Auflösen des durch Kochsalz in Substanz und Säure erzeugten Niederschlages in die Hände, während die zuletzt erwähnten Verhältnisse besonders an den dialysirten, verdünnten Lösungen beim Neutralisiren sich bemerkbar machen.

Um diesen Wechsel der Erscheinungen an concreten Beispielen zur Darstellung zu bringen, gehe ich von einer Lösung aus, deren Concentration war in

100 CC. = 32 Grm. Hemialbumose — 1·15 HCl.

Der Aschengehalt des Trockenrückstandes betrug 0·33 Pct. hauptsächlich in Wasser unlöslicher Natur, konnte also ausser Rechnung bleiben.

Es war diess die Lösung einer Salzsäurehemialbumose mit 3·6 Pct. HCl.

5 CC. dieser Lösung wurden mit 0·9 CC. einer Kochsalzlösung von 26·4 Grm. in 100 CC. versetzt. Die Lösung ist jetzt bei durchfallendem Licht vollkommen klar, bei auffallendem aber rauchig grau und nach $1^1/_2$ bis 2 Stunden definitiv trüb. Derselbe Erfolg wird aber an einer solchen Lösung sofort erreicht, wenn dieselbe auf 40—50° C. erwärmt wird.

Die dadurch entstandene starke Trübung weicht bei weiterer Steigerung einer vollständigen Aufhellung mit fast gänzlichem Verschwinden der Opalescenz; beim Wiederabkühlen aber fällt jetzt die Säurehemialbumose in Flocken aus.

Das Verhältniss der einzelnen Bestandtheile der Lösung war unter diesen Umständen folgendes:

5 CC. mit 1·6 Hem. + 0·058 HCl.
0·8 CC. mit — — 0·2112 NaCl

5·8 CC. mit 1·6 Hem. + 0·058 HCl + 0·2112 NaCl
100 CC. mit 27·5 Hem. + 1·0 HCl + 3·6 NaCl.

Um den störenden Einfluss der Nachtrübung zu eliminiren, ist es bloss nöthig, den Gehalt der Lösung an Hemialbumose zu vermindern; alsdann tritt der Einfluss der Variationen im Salzgehalt fast mit einem Schlage ein.

Dieselbe Mutterlösung wird daher mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und jetzt die concentrirte Kochsalzlösung hinzugetropft, bis die erste Trübung eintritt.

Nach Zusatz von 1 CC. bleibt die Lösung noch klar, das Verhältniss der Bestandtheile ist in

100 CC = 14·5 Hem. 2·4 NaCl — 0·52 HCl.

Zusatz von 0·1 der Salzlösung darüber bewirkt sofort dichte Trübung, die beim Erwärmen vollkommen schwindet, um bei Abkühlen wiederzukehren. Das Verhältniss der Bestandtheile ist:

100 CC = 14·5 Hem. — 2·6 NaCl — 0·52 HCl

Um jetzt die Trübung in der abgekühlten Flüssigkeit zum Verschwinden zu bringen, genügt es nicht, dieselbe mit Wasser zu verdünnen, bis wieder ein Salzgehalt von 2·4 : 100 CC. erreicht ist, da die einmal ausgeschiedene Hemialbumose einen grossen Theil der Säure an sich gezogen hat, und jetzt der verminderte Säuregehalt der Flüssigkeit, in welcher der Niederschlag suspendirt ist, nicht mehr ausreicht, um den der Lösung entgegenwirkenden Einfluss des genannten Salzgehaltes vollständig zu überwinden.

Der Zusatz von Wasser muss denn auch thatsächlich erfolgen, bis zu einem Verhältniss von:

100 CC. = 8 Hem. — 1·8 NaCl — 0·28 HCl.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Dabei muss die Einwirkung des Wassers durch Erwärmen unterstützt werden, da ohnediess die hiezu nöthige Menge noch erheblich grösser wäre, ein Umstand, der auch unter anderen Verhältnissen wieder zu beachten sein wird.

Wird aber die Reducirung des Salzgehaltes in der Weise bewirkt, dass der Säuregehalt der Lösung dabei nicht wesentlich vermindert wird, so treten die Veränderungen schon bei sehr kleinen Gehaltsschwankungen prägnant ein. Es geschieht diess durch Zusatz einer Salzsäure mit dem Titre 1 CC. = 0·00992 HCl.

0·8 CC. hievon genügen, um aus der durch Erhöhung ihres Salzgehaltes auf 2·6 : 100 CC. trüb gewordenen Flüssigkeit sofort eine bei jeder Temperatur klare Lösung zu machen, bei einem Verhältnisse von:

100 CC. = 13·4 Hem.—2·4 NaCl—0·54 HCl.

Durch Zufügen einer geringen Menge Kochsalz wird die Trübung wieder hergestellt, durch Verdünnen bei gleichbleibendem Säuregehalt oder durch geringe Erhöhung des Säuregrades ohne wesentliche Verdünnung wird sie wieder aufgehoben u. s. f. Einige Glieder, aus solchen Reihen von Titrirungen herausgehoben, mögen zur Übersicht dienen.

Die Gehaltsangaben sind auf 100 CC. Lösung bezogen.[1]

Reihe	Hemialbumose	NaCl	HCl	heiss	kalt	bei 40—50°
1	10·3	10	0·06	—	—	
2	10	10	0·08	(∓)	—	+
3	14·5	2·4	0·53	—	—	
4	14·5	2·6	0·53	+	—	
5	13·4	2·4	0·55	—	—	
6	13·6	3·2	0·70	+	—	
7	13	3·1	0·82	—	—	
8	8	3·5	0·60	—	—	
9	2·3	1·4	0·08	+	—	
10	2·3	1·39	0·12	—	—	
11	13	4	0·80	+	—	
12	12·5	3·8	1·10	+	—	
13	8	4	0·58	+	—	
14	6·7	6	0·7	+	+	

[1] + trüb, — klar.

Man kann bei diesen Versuchen drei Phasen unterscheiden.

Der Wechsel zwischen Trübung und Aufhellungen bei nicht erwärmten Lösungen durch Veränderungen im Kochsalz- und Säuregehalt derselben, macht sich noch bis zu einem Salzgehalt von etwa 4 Pct. geltend. Die Erscheinung kann, wie Reihe 1 bis 10 darstellt, sowohl durch geringe Änderungen im Gehalte an NaCl, wie durch solche an Säure hervorgebracht werden, und zwar kann bei gleichbleibender Concentration in Bezug auf NaCl und Hemialbumose durch Vermehrung des Säuregehaltes die Aufhellung in der Kälte herbeigeführt werden (6, 7, 9, 10). Der Einfluss, den umgekehrt die Herabminderung des absoluten Säuregehaltes der Lösung bei gleichbleibendem relativem, d. h. der vorhandenen Hemialbumose entsprechendem verursacht, ist durch Reihe 9 und 10 ausgedrückt durch die geringere Menge NaCl, welche hier schon die Trübung hervorruft.

Erst wenn der relative Säuregehalt der Lösung eine gewisse Strecke unter das früher festgestellte Minimum von 1·8 Pct. sinkt, die Säure also an sich nicht mehr zur Lösung der vorhandenen Hemialbumose ausreicht, kann der umgekehrte Fall eintreten, d. h. durch Vermehrung der Säure Fällung eingeleitet werden. Die Wirkung der Säure besteht auch in diesem Falle in der Bildung einer typischen Säurehemialbumose, die bei dem vorhandenen Salzgehalt nicht in Lösung bestehen kann. Dieser Fall kann nicht verwechselt werden mit jenem, wo, nicht wie hier, eine leicht lösliche Säureverbindung durch Herstellung eines heterogenen, der Lösung entgegenwirkenden Mediums abgeschieden wird, sondern wo die Säure (Mineralsäure) an sich, unabhängig von anderen gleichzeitig neben der Hemialbumose anwesenden Stoffen, die Fällung bewirkt. In Reihe 2 beträgt der relative Säuregehalt 0·8 Pct. der Hemialbumose, er wird durch das Kochsalz gerade noch überwunden; die geringste Vermehrung des Säuregehaltes bewirkt in einer solchen Lösung sofort eine starke Fällung, die aber hier auch ohne diese Vermehrung sofort eintritt, wenn auf 40—50° erwärmt wird.

Während in den erstangeführten Reihen (von 3 an) die Säure allein die Lösung vermittelt, ein gewisser Salzgehalt daneben nur ertragen wird, ist es in den Fällen von Reihe 1 und 2 wesentlich das NaCl, welches die Hemialbumose in Lösung hält und dabei

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

einen gewissen Säuregehalt, sofern er sich unter dem relativen Minimum hält, zu überwinden im Stande ist.

Eine zweite Phase bildet die Erhöhung des Kochsalzgehaltes über 4 Pct. Die Klärung in der Kälte durch Variationen im Säuregehalt tritt jetzt nicht mehr ein, wohl aber noch der Wechsel beim Erwärmen und Wiederabkühlen.

Eine Erhöhung des Salzgehaltes auf 6 Pct. der Lösung endlich lässt auch in der Wärme keine vollständige Aufhellung mehr zu (Reihe 14).

Ganz analog sind, wie schon Reihe 1 und 2 als Übergangsglieder ausdrücken, die Verhältnisse da, wo das Kochsalz die Rolle als Lösungsmittel übernimmt.

Wie von der saueren Lösung ein gewisser Salzgehalt, so wird von der durch NaCl vermittelten ein gewisser Säuregrad überwunden. Bei Insufficienz beider Factoren an sich aber findet eine gegenseitige Ergänzung nicht statt.

Während alle bisher besprochenen Fälle sich an jenem Ende einer Reihe befinden, wo beide Lösungsmittel nahe daran sind überschüssig und dadurch zu Fällungsmitteln zu werden, befinden sich am entgegengesetzten jene Mischungsverhältnisse solcher Lösungen, wo die bisherigen Lösungsmittel anfangen ungenügend zu werden.

Auch hier beruht der gleiche Wechsel der Erscheinungen auf ganz analogen Bedingungen, und gerade diese Fälle sind umsomehr von Interesse, als sie das

Verhalten beim Neutralisiren

solcher Lösungen betreffen. Wie bereits von Pekelharing angegeben wurde, zeigen die aus dem Dialysator genommenen, sauer reagirenden Lösungen beim Neutralisiren bald schwächere, bald stärkere Trübung, woraus jener Autor den richtigen Schluss zog, dass das „Pepton", wie er diesen Eiweisskörper fälschlich nannte, eigentlich in kaltem Wasser unlöslich sei.

Der Eintritt dieser Trübung bei Zusatz von Lauge oder deren Ausbleiben, die aufhellende Wirkung der Wärme oder deren Versagung, ja umgekehrt sogar die Beförderung durch Erwärmen, ferner der wechselnde Zeitpunkt des Auftretens und endlich die Beschaffenheit des Präcipitats, — alle diese Verhält-

nisse sind hier ebenso abhängig von der Concurrenz der in einer solchen Lösung zusammentreffenden drei Factoren wie in den bereits erwähnten Fällen.

Die Erscheinungen mögen an einigen Lösungen näher verfolgt werden.

Die zunächst verwendete Lösung enthielt wieder in 100 CC. 33·16 Grm. einer Salzsäurehemialbumose mit 3·6 Pct. HCl. Die Asche mit 0·33 Pct. der Trockensubstanz war zu vernachlässigen. 5 CC. dieser Lösung erforderten im Mittel von 4 Titrirungen 5·85 CC. Lauge (1 CC. = 0·00992 HCl).

Die ursprünglichen Concentrationsverhältnisse waren:

100 CC. = 32 Hem.—1·16 HCl.

Nach Zusatz von 3 CC. Lauge war das Verhältniss:

	5 CC. mit 1·6 Hem.	+ 0·0580 HCl	
Hiezu Lauge..	3 CC. —	— 0·0297 „	+ 0·0477 NaCl
	8 CC. mit 1·6	+ 0·0283	+ 0·0477

100 CC. mit 20·0 Hem, + 0·354 HCl + 0·5 NaCl.

Nach Zusatz von 4 CC. Lauge war der Zustand der Lösung

100 CC. = 18 Hem.—0·71 NaCl—0·2 HCl.

Am Ende des Titrirens kamen auf

100 CC. = 14·7 Hem.—0·86 NaCl.

Nach Zusatz von 3 CC. Lauge war der relative, percentische Säuregehalt (1·8) derart, dass er an sich die Lösung der Hemialbumose zu erhalten im Stande war, zugleich hatte der Salzgehalt nicht die Höhe erreicht, wo er bei dem vorhandenen absoluten Säuregehalt der Lösung störend wirken konnte.

Zusatz von 4 CC. Lauge hatte hierauf den Säuregehalt so weit unter das zur Lösung nöthige Minimum herabgedrückt (auf 1·1 Pct.), dass das gleichzeitig entstandene NaCl von nun an bis zum Ende des Titrirens die Lösung übernehmen konnte. Der bis zum Schluss entstandene Salzgehalt aber ist einerseits, wie später gezeigt wird, im Stande, sogar nahezu die doppelte Menge an Hemialbumose in Lösung zu halten.

Anders verläuft der Vorgang, wenn die gleiche Lösung vor dem Zusatz von Lauge durch Wasser verdünnt wird. Nach Ver-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

dünnen von 5 CC. der früher erwähnten Lösung mit 10 CC. Wasser trat nach Zusatz von 3·3 CC. Lauge die erste Trübung ein, welche beim Erwärmen verschwand, beim Abkühlen wiederkehrte. Durch weiteren Zusatz von Lauge nimmt die Trübung immer mehr zu, ohne in den späteren Stadien eine Verminderung zu zeigen, weil bei dem ursprünglich vorhandenen absoluten Säuregehalt niemals die zur Lösung nöthige Menge NaCl entsteht. Zugleich wird der Unterschied beim Erwärmen und Wiederabkühlen gegen Ende immer weniger ausgesprochen, weil eben diese Erscheinung gänzlich von der combinirten Kochsalzsäurewirkung abhängig ist.

Der Zustand der mit zwei Drittel Wasser verdünnten Lösung nach Zusatz von 3·3 CC. Lauge ist

100 CC. = 8·7 Hem.—0·286 NaCl—0·139 (= 1·6 Pct.)

Am Ende des Titrirens

100 CC. = 7·7 Hem.—0·45 NaCl.

Von dem Augenblick an, wo das typische Säureminimum nach abwärts überschritten war, musste die Trübung erfolgen und bleibend werden, da zu keiner Zeit mehr der Salzgehalt sich zu der für die Lösung erforderlichen Menge erhob.

Ganz der gleiche Erfolg ist natürlich auch dadurch zu erreichen, dass man die nicht mit Wasser versetzte ursprüngliche Lösung, nachdem eine gewisse Menge Lauge zugesetzt ist, nachträglich verdünnt, und hiebei kann man alsdann zugleich sehr schön jene interessante Erscheinung hervorrufen, deren schon mehrmals Erwähnung geschah. Ist man nämlich mit der Verdünnung nahe an die Grenze gegangen und erwärmt man jetzt die noch vollständig klare Lösung auf 40—50° C., so tritt sofort die Trübung ein, hellt sich dann bei Steigerung der Temperatur wieder auf, so lange der hiezu nöthige geringe Säuregehalt noch übrig ist und stellt sich beim Abkühlen von Neuem ein.

Von diesem Fall auseinander zu halten ist ein anderer ganz ähnlicher, in seinen Bedingungen aber wesentlich verschiedener. Es ist vorauszusetzen, dass eine durch ungenügenden Salzgehalt trübe gewordene Lösung durch Zusatz von NaCl aufgehellt werden müsse, sobald der gleichzeitige Säuregehalt dem nicht mehr entgegenwirkt; man darf nun aber nicht erwarten, hiezu

mit derselben Menge auszureichen, welche genügt, um einmal in Lösung befindliche Hemialbumose in dieser zu erhalten. Während nach dem erstangeführten Titrirversuch weniger als 1 Grm. in 100 CC. Flüssigkeit im Stande war eine klare Lösung zu erhalten, muss, um die nachträgliche Klärung herbeizuführen, gegen 1·5 Grm. zugegeben werden; auch diese Menge bewirkt nicht sofort die vollständige Aufhellung, die Einwirkung muss vielmehr durch Erwärmen unterstützt werden und hiebei tritt nun an der nicht vollständig klaren Flüssigkeit beim Passiren jener Temperaturgrade von 40—50° nochmals die starke Trübung ein, ehe die Flüssigkeit vollständig klar wird und von nun an bei jeder Temperatur so bleibt. Ein dritter, ebenfalls sehr ähnlicher Fall, wobei diese Erscheinung an einer Lösung wiederholt hervorzurufen ist und sowohl bei Steigerung der Temperatur als beim Abkühlen jedesmal wieder verschwindet, wird später bei Erwähnung des Einflusses von Alkali auf salzhaltige Lösungen angeführt werden.

Eine besondere Aufmerksamkeit verdient die Beschaffenheit des Neutralisationspräcipitates, das unter diesen Verhältnissen, also durch Abstumpfen der Säure oder durch gleichzeitige Verdünnung der Lösung entsteht. Wie erwähnt, beginnt naturgemäss die Ausscheidung meist schon weit vor Erreichung des neutralen Punktes, ja sie erreicht ihre grösste Mächtigkeit häufig lange zuvor, zumal in Lösungen mit höherem Säuregehalt, wie sie ohne Anwendung der Dialyse gewonnen werden. Der höhere Säuregrad gestattet eben das Zustandekommen eines grösseren Gehaltes an Kochsalz, der seinerseits, wenn auch unzureichend zur vollständigen Lösung, doch diesem Punkt nahe kommt, so dass gegen Ende des Titrirens die Trübung wieder abnehmen kann.

Prüft man während des Zusatzes der Lauge von Zeit zu Zeit die Reaction der trüben Flüssigkeit, so kann man, nach einigem Absetzen des Präcipitates in der überstehenden Flüssigkeit, respective im Filtrat, bereits neutrale Reaction erhalten, während die Flüssigkeit thatsächlich noch gar nicht neutralisirt ist.

Setzt man soviel Kochsalzlösung hinzu, dass der Niederschlag wieder in Lösung geht, so ist dann in demselben auch die sauere Reaction deutlich zu constatiren und jetzt erst kann die Titrirung

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

sicher zu Ende geführt werden. Das unter diesen Umständen erhaltene Neutralisationspräcipitat ist also keine reine Hemialbumose, sondern säurehaltig; denn, wenn der schliesslich durch blossen Zusatz von Lauge erreichte Salzgehalt auch an sich genügen würde, die gegebene Menge Hemialbumose in Lösung zu halten, — die einmal ausgefüllte und ebenso eine, wenn auch unvollkommene Säurehemialbumose vermag er nicht in Lösung überzuführen.

Das Präcipitat muss aber auch in Wasser unlöslich sein, oder richtiger, immer schwerer löslich werden, je mehr man die geringen Antheile nach und nach damit auszieht, die vermöge des noch anhaftenden kleinen Säure-, respective Salzgehaltes einer Lösung noch zugänglich sind.

Ebenso schwer wird dieses Präcipitat von Kochsalzlösung in Auflösung gebracht, theils weil der, wenn auch geringe Säuregehalt dem entgegenwirkt, zum Theil besonders nach wiederholtem Auswaschen und zumal in der Wärme, da, wie wir später sehen werden, auch die reine Hemialbumose, einmal ausgeschieden, ihre Löslichkeit in jener immer mehr einbüsst.

Dagegen wird dieses Präcipitat mit Leichtigkeit durch verdünnte Säuren gelöst und aus einer solchen Lösung können nun alle die verschiedenen Modificationen der Hemialbumose ganz beliebig hergestellt werden, welche überhaupt in diesen Untersuchungen zur Sprache kommen.

Man erkennt unschwer die grosse Übereinstimmung dieses Präcipitats mit der oben erwähnten vierten Alkoholfraction.

Wenn bisher fast ausschliesslich das gegenseitige Verhältniss von Säure, Kochsalz und Hemialbumose in Betracht gezogen wurde, so muss jetzt, wo es sich um das Verhalten beim Neutralisiren handelt, einer Möglichkeit ganz entgegengesetzter Natur gedacht werden, welche mit den in gewisser Hinsicht sehr verschiedenen Beziehungen der Hemialbumose zu Alkalien im Zusammenhang steht.

Eine etwas eingehendere Erörterung dieser Beziehungen zwischen Hemialbumose und Alkali behalte ich mir für später vor.

Hier sei nur der grossen Neigung der Hemialbumose, sich mit Alkalihydraten zu verbinden, Erwähnung gethan, welche Neigung derjenigen zu Säuren in nichts nachsteht.

Diese Verbindungen sind zwar nicht mit gleicher Leichtigkeit fassbar wie die mit Säuren, allein ihr thatsächliches Bestehen begegnet uns bei diesen Untersuchungen auf Schritt und Tritt, bald förderlich, bald im Wege stehend, — und so auch bei der Beschäftigung mit dem Neutralisationspräcipitat.

Hat man es unterlassen, den durch Alkalizusatz in verdünnten Lösungen der Säurehemialbumose entstehenden Niederschlag gegen Ende des Titrirens durch etwas NaCl in Lösung zu bringen so tritt bei fortgesetztem Zutropfen von Lauge, auch ohne Salzzusatz, die Aufhellung ein, meist plötzlich und ohne Spur einer Opalescenz. In diesem Augenblick ist aber der neutrale Punkt bereits überschritten, die Lösung alkalisch.

Wenn nun der Alkalizusatz in so kleinem Überschuss stattfand, dass dadurch eben knapp die Auflösung erfolgte, so kann durch Verdünnen mit Wasser von Neuem ein Niederschlag erzeugt werden; dieser Niederschlag aber ist ebenfalls keine reine Hemialbumose, sondern alkalihaltig und kann durch Waschen mit Wasser ebensowenig sicher gereinigt d. h. von Alkali befreit werden, wie der früher erwähnte Niederschlag mit unvollständigem Säuregehalt.

Es braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, dass auch hier der gleiche Erfolg eintreten kann ohne nachträgliche Verdünnung, wenn es sich von vornherein um eine Lösung handelt, deren Verhältnisse zuletzt nur einen sehr ungenügenden Kochsalzgehalt zu Stande kommen lassen und daher eine gewisse, schon leichter controlirbare Alkalimenge vertragen, ohne klar zu werden. Äquivalente Massen von Kochsalz und Alkalihydrat sind durchaus nicht äquivalent in Betreff ihrer Wirkung auf Hemialbumose.

Eine klare Lösung derselben, welche durch Alkali (NaOH) vermittelt ist, trübt sich wie eine saure Lösung beim Neutralisiren und liefert dabei ein alkalihaltiges Präcipitat; die Trübung tritt aber, wenn überhaupt, viel später ein, als bei den saueren Lösungen, da eben Salz und Alkali sich gegenseitig in ihrer lösenden Wirkung unterstützen und eine relativ geringe Menge Alkali ihrem diessbezüglichen Einfluss nach dem Mehrfachen an NaCl äquivalent ist.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Darauf beruht es auch, dass gewisse, scheinbar neutralisirte, thatsächlich aber durch Alkali vermittelte Lösungen, die im Dialysator durch Salzverlust und Verdünnung sich getrübt hatten, durch eine Spur Kochsalz gleich wie durch einen Hauch geklärt werden; ebenso natürlich durch etwas Alkali oder Säure.

Gerade in Bezug auf Alkalescenz läuft man beim Neutralisiren solcher Lösungen, wie später noch wiederholt zu berücksichtigen sein wird, am meisten Gefahr, in einen Irrthum zu gerathen.

Einwirkung von Metallsalzen auf die Lösungen der Salzsäure-Hemialbumose.

Wie in den Lösungen der Essigsäure-Hemialbumose, so bringen auch hier weder Eisen-, noch Kupfer-, weder Blei-, noch Silbersalze die mindeste Trübung hervor, ja die durch Zusatz von etwas Lauge entstandenen Fällungen lösen sich in minimalen Mengen Säure wieder vollständig auf; ist die zu solchen Niederschlägen hinzugebrachte Säuremenge aber nicht genügend, um die Lösung ohne Weiteres herbeizuführen, so geschieht diess wenigstens in der Wärme und in diesem Fall kommt die Trübung, respective der Niederschlag, beim Abkühlen zurück; nur die Silberniederschläge erleiden dabei, ebenso wie die mit $AgNO_3$ versetzten Lösungen eine Zersetzung. Ganz die gleiche Wirkung auf solche Niederschläge haben auch Alkalihydrate; dabei sind nur einige einfache Cautelen zu beachten, welche die Erscheinung zu stören im Stande sind und die darin bestehen, dass man den über dem Niederschlag befindlichen, vielleicht allzugrossen Überschuss der fällenden Lösung wieder zum grösseren Theil wenigstens abgiesst, um das Zustandekommen verdeckender Metallhydroxide zu vermeiden.

In diesem Falle überzeugt man sich leicht, wie bedeutende Mengen solcher Metallverbindungen durch geringe Mengen Alkali, respective Säure, in Lösung gehalten werden können.

Ein besonderes Interesse bietet das Verhalten zu Silberlösung.

Der einzige Unterschied der Salzsäure-Hemialbumose gegenüber den anderen Säureverbindungen besteht hier in dem früheren

Auftreten einer Opalescenz, bald gerade noch bemerkbar, bald stärker.

Die Opalescenz an sich bietet nicht das Charakteristische, da diese sich in den Lösungen aller Säurehemialbumosen früher oder später einstellt, und zwar nicht bloss nach Zusatz von $AgNO_3$, sondern der mannigfaltigsten Salze, wie diess am einfachsten sich zeigt und am ausführlichsten erörtert wurde beim Chlornatrium.

Welche bedeutende Mengen von Silbernitrat eine Lösung von Säurehemialbumose mit beliebigem Säuregehalt verträgt, ohne trüb zu werden, mag aus folgendem Versuch ersehen werden.

5 CC. einer Lösung von Salzsäure-Hemialbumose mit 32 Hem. und 1·16 HCl in 100 CC. wurden mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und von einer fünfpercentigen Silbernitratlösung zugetropft. Nach Zusatz von 1 CC. zeigt sich eine mässige Opalescenz. Das Verhältniss der Bestandtheile wird berechnet zu:

$$100 \text{ CC.} = 14{\cdot}5 \text{ Hem.} + 0{\cdot}53 \text{ HCl} + 0{\cdot}45 \text{ } AgNO_3.$$

Bis zur Vermehrung der Silberlösung auf 8 CC. macht sich ausser zunehmender Opalescenz keine Veränderung bemerklich, insbesondere bleibt die Lösung absolut klar bei durchfallendem Licht.

Das Verhältniss nach Zusatz von 8 CC. Silberlösung ist

$$100 \text{ CC.} = 9 \text{ Hem.} + 0{\cdot}3 \text{ HCl} + 2{\cdot}2 \text{ } AgNO_3.$$

Durch Zusatz von 0·5 CC. Salzsäure (1 CC. = 0·08 HCl) tritt keine wesentliche Änderung ein, ebenso wenig durch Zusatz von Silberlösung bis zu 10 CC., bei einem Mischungsverhältniss:

$$100 \text{ CC.} = 8 \text{ Hem.} + 0{\cdot}48 \text{ HCl} + 2{\cdot}44 \text{ } AgNO_3.$$

Bei weiterem Zusatz von Silberlösung, allein oder abwechselnd mit Salzsäure, wird die Opalescenz immer mächtiger, schliesslich der Übergang in eine eigentliche Trübung kaum mehr abzugrenzen und wenn eine solche auch zu Stande gekommen ist, die Bildung eines Niederschlages, selbst nach längerem Zuwarten, nicht zu bemerken.

Erst wenn erwärmt wird, nimmt die Flüssigkeit sofort, auch wenn dieselbe noch ganz klar war, ein milchiges Ansehen an,

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

obwohl auch dann kein genügendes Absetzen der Trübung stattfindet.

Da die Silberverbindung in Alkalien ebenso löslich ist, wie in Säuren, so verläuft der Versuch mit einer alkalischen Lösung der Hemialbumose ebenso wie mit der saueren.

Dieses Verhalten wird durch die Anwesenheit einer gewissen Menge NaCl nicht geändert und es ergibt sich auch hieraus, wie unsicher die Prüfung auf Chlorgehalt im Aussenwasser des Dialysators ausfallen muss und wie unumgänglich genauere Aschenbestimmungen zum Abschätzen des Effectes bei der Dialyse sind.

c) Schwefelsäurehemialbumose.

Die Darstellung bietet hier die einzige wesentliche Eigenthümlichkeit im Vergleich mit den bisher besprochenen Säureverbindungen.

Wollte man dabei auf die gleiche Weise verfahren wie bei jenen, also mit Kochsalz und Schwefelsäure fällen, so würde man durchaus keine Schwefelsäure-Hemialbumose erhalten.

Schon beim Dialysiren so präparirter Lösungen ist das baldige Ausbleiben fast jeder Schwefelsäurereaction im Aussenwasser und nach mehrtägiger Dialyse der geringe Barytniederschlag aus der saueren Lösung auffallend.

Einige Analysen klären jedoch dieses Verhalten leicht auf.

Von einem genau nach dem früheren Verfahren, nur mit Benützung von Schwefelsäure dargestellten, zuletzt mit Alkohol gefällten und im Exsiccator getrockneten Präparat wurde eine klare Lösung hergestellt und diese, nach Bestimmung des Rückstandes zu einer zehnpercentigen verdünnt.

1·1785 Grm. bei 105° auf constantes Gewicht gebracht, enthielten an Asche 0·005 Grm., darunter 0·0033 Grm. in Wasser unlösliche, hauptsächlich aus Eisen, Kalk und reichlich Phosphorsäure bestehend.

Die Gesammtasche betrug somit . . . . 0·42 Pct.,
der unlösliche Theil . . . . . 0·28 „

10 CC. der 10percentigen Lösung erforderten im Mittel von 4 Titrirungen 3·1 CC. Lauge (1 CC. = 0·00992 HCl) = 0·0307 HCl.

Der Säuregehalt der Säurehemialbumose entsprach also 3 Pct. HCl.

10 CC. gaben im Mittel zweier Bestimmungen 0·267 $BaSO_4$ = 0·01123 SO_4H_2 äquival. 0·00836 HCl.

10 CC. mit Soda eingetrocknet, verkohlt und schliesslich unter Zusatz kleinster Mengen Salpeters verbrannt, gaben .0·074 AgCl.

10 CC. mit Kalk verbrannt lieferten .... ..0·080 AgCl

Im Mittel wurden aus 10 CC. erhalten = 0·077 AgCl entsprechend 0·0196 HCl.

Auf 100 CC. Lösung berechnet wurden also titrirt .0·307 HCl

der gewogenen SO_4H_2 äquivalent . .0·0836 HCl

an HCl als AgCl gewogen .0·1960 „

Im Ganzen folglich an Säure gewogen . . .0·2796 HCl.

Aus dieser Analyse geht hervor, dass sich überhaupt auf die angeführte Weise keine Schwefelsäurehemialbumose bildet, dass vielmehr die durch Schwefelsäure aus dem NaCl freigemachte Salzsäure von der Hemialbumose aufgenommen wurde und folglich die Neigung der letzteren zur Aufnahme von Salzsäure eine grössere sein muss, als zur Vereinigung mit Schwefelsäure.

Nach diesen Erfahrungen muss man sich also zur Darstellung einer echten Schwefelsäurehemialbumose statt des NaCl eines Sulfates bedienen. Ich habe hiezu das Natriumsulfat gewählt und im Übrigen den bisherigen Gang eingeschlagen. Trotz $4^1/_2$tägiger Dialyse enthielt das Präparat noch 1·4 Pct. an Asche, vorwiegend in Wasser lösliche Sulfate.

Die Gesammtmenge der als $BaSO_4$ gewogenen SO_4H_2, abzüglich der in den Sulfaten der Asche vorhandenen, entsprach der titrirten Säure. Das aschefreie Präparat war eine Schwefelsäurehemialbumose mit 4 Pct. SO_4H_2 (äquiv. = 2·98 HCl).

Die Eigenschaften der Schwefelsäurehemialbumose wurden in keinem wesentlichen Punkte abweichend von denen der vorher besprochenen Verbindungen gefunden.

d) Von anderen Säuren

wurden geprüft und in ihrem Einfluss übereinstimmend gefunden:

die Phosphorsäure und die Milchsäure.

Die Kohlensäure ist selbst auf eine mit Kochsalz gesättigte Lösung der Hemialbumose wirkungslos.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Das von anderen Säuren abweichende Verhalten der Salpetersäure, worauf Kühne's Reaction beruht, ist genügend bekannt und gelegentlich noch zu erwähnen.

Die reine Hemialbumose.

Die bisher mitgetheilten Erfahrungen über die Säurehemialbumosen, insbesondere die beim Neutralisiren ihrer Lösungen gemachten Beobachtungen, geben bereits wesentliche Anhaltspunkte in Betreff der Eigenschaften und der Darstellung der reinen Hemialbumose.

Solche Lösungen der Säurehemialbumosen trüben sich, wie oben erwähnt, entweder sofort während des Neutralisirens oder durch nachträgliche Verdünnung mit Wasser.

Hiemit sind bereits die Wege zur Darstellung vorgezeichnet.

1. Man neutralisirt eine möglichst säurearme Lösung und verdünnt dieselbe darnach mit Wasser, wodurch die Hemialbumose sich in weissen Flocken ausscheidet.

2. Ein anderer Weg besteht darin, dass man die neutralisirte Lösung einer reinen Säurehemialbumose nach starkem Einengen der Dialyse unterzieht.

Der Vorgang beruht auch hiebei auf der Verminderung des absoluten Salzgehaltes der Lösung theils durch Diffusion, theils durch Verdünnung. Die Hemialbumose scheidet sich als mächtige braune Schichte von geléeartiger Consistenz am Boden des Dialysators ab und ist bequem zu gewinnen; dabei ist die Ausbeute eine bessere als beim erstgenannten Verfahren, weil eben ein grosser Theil des Salzes gänzlich aus der Lösung entfernt wird.

3. Die genau neutralisirte Lösung einer reinen Salzsäurehemialbumose wird mit NaCl gesättigt.

Schon früheren Beobachtern, wie Pekelharing, war es bekannt, dass aus einer solchen neutralen Lösung nicht blos durch Säure und Kochsalz, sondern auch durch letzteres allein eine, wenn auch weniger vollständige Ausscheidung zu bewirken ist.

Dieser stark salzhaltige Niederschlag kann nun in verschiedener Weise weiter verarbeitet werden.

Entweder man bringt die wässerige Lösung in den Dialysator, oder man presst den Niederschlag gut ab, überschichtet ihn im Cylinder mit Wasser, welches nach 24 Stunden abgehoben

wird, worauf der honigartige Rückstand mit Wasser geschüttelt wird; die Hemialbumose fällt in weissen Flocken aus. Oder man bringt den Niederschlag ohne ihn zu lösen in den Dialysator; nach wenigen Stunden ist soviel Wasser in die Zelle getreten, dass eine sehr concentrirte, syrupöse Lösung entstanden ist, die sich rasch, etwa nach 24 Stunden, in einen massenhaften braunen Niederschlag und eine klare Flüssigkeit geschieden hat.

Man erspart bei allen diesen Proceduren an Zeit und Arbeit, wenn man Sorge trägt, dass der Kochsalzgehalt der zu verwendenden Lösungen, respective der Niederschläge ein möglichst geringer ist.

Zur Ausfällung mit NaCl wird also die zur Sättigung nöthige Menge annähernd in Substanz eingetragen und der Rest in concentrirter Lösung beigefügt.

In allen Fällen bleibt neben dem Niederschlag noch eine Lösung, die, falls durch Verdünnen mit Wasser gefällt wurde, einzuengen ist.

Prüft man die Reaction einer solchen, gleichviel auf welche Weise erhaltenen Lösung, so wird man fast stets eine Abweichung von der neutralen Reaction constatiren können, auch wenn man glaubte die ursprüngliche Lösung genau neutralisirt zu haben.

Das Neutralisiren etwas grösserer Mengen derartiger Lösungen, zumal von höherer Concentration ist eben niemals so sicher zu bewerkstelligen, dass nicht doch solche Abweichungen blieben, die auf die Beschaffenheit sowohl des Niederschlages als der zurückbleibenden Lösung von wesentlichem Einfluss sind.

Nach geschehener Ausfällung eines grossen Theiles der Hemialbumose, welche die Reaction durch ihre Anwesenheit zu verdecken im Stande war, wird in der zurückgebliebenen, an Hemialbumose ärmeren Lösung die wahre Reaction hervortreten, eventuell durch Einengen vollständig deutlich zu machen sein, die Menge der Hemialbumose aber, die sich der Ausfällung entzogen hat, wird um so grösser sein, je mehr die Reaction von der neutralen abwich.

Aber nicht blos auf die Beschaffenheit der restirenden Lösung macht sich der Einfluss der Reaction geltend, sondern auch auf diejenige des Niederschlages, welcher unter diesen Umständen niemals eine reine Hemialbumose darstellt, vielmehr stets einen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Antheil von Säure oder Alkali zurückhält und zwar mit solcher Hartnäckigkeit, dass er durch Waschen mit Wasser davon nicht vollständig zu befreien ist. Diese Zähigkeit, mit der gewisse Reste von Säure, respective Alkali von dem Niederschlag festgehalten werden, erinnert an das Verhalten mancher Gewebe zu gewissen Lösungen, beziehungsweise den darin enthaltenen Stoffen, überhaupt an mancherlei Erscheinungen, die man als Flächenwirkungen zu bezeichnen pflegt.

In den meisten Fällen fällt der Fehler beim Neutralisiren auf Seite der Alkalescenz, so dass nach Abscheidung des Niederschlages die verbliebene Lösung alkalisch reagirt und der Niederschlag selbst grössere oder geringere Reste von Alkali zurückhält.

Um nun eingehend den Einfluss von Säure, Alkali und Kochsalz bei der Darstellung der reinen Hemialbumose zu verfolgen und ein Urtheil über die schliesslich zur Elementaranalyse verwendeten Präparate zu ermöglichen, wurde folgender Gang der Untersuchung eingeschlagen.

Eine durch wiederholte Fällung mittelst Kochsalz und Salzsäure gereinigte, stark eingeengte Lösung von Salzsäurehemialbumose wurde neutralisirt und in mehrere Dialysatoren vertheilt.

Bald stellt sich eine Trübung ein, die durch minimale Mengen Alkali, durch etwas NaCl oder durch geringen Säurezusatz aufgehellt werden kann, wie bereits Pekelharing angibt. Indem dieser Autor aber auf diese Weise im Dialysatorinhalt die Klärung herbeiführte, oder gar von der entstandenen Trübung abfiltrirte, hat er sich die Darstellung der eigentlichen, der reinen Hemialbumose entgehen lassen.

Nach etwa 2×24 Stunden hat sich der Inhalt der Zellen in eine mächtige braune Schichte *A*, die den Boden bedeckt und eine darüberstehende klare Flüssigkeit *B* geschieden.

Der Niederschlag *A* wurde wiederholt auf dem Wasserbad mit Wasser digerirt; eine Probe der ersten Waschflüssigkeit enthielt nahezu 2 Pct. an organischer Substanz, die folgenden gaben immer weniger Rückstand (hier blos als solcher bestimmt), ohne dass man hätte sagen können, wann die Substanz vollständig durch Wasser erschöpft sei. Dieselbe wurde hierauf mit 5percentiger Kochsalzlösung extrahirt. Die erste Portion nahm

rasch gegen 3 Pct. an organischer Substanz auf, ohne vollständig klar zu sein trotz Filtriren, die zweite gegen 1·5 Pct., die folgenden nur mehr einige pro mille, so dass schliesslich ein ansehnlicher, in NaCl unlöslicher Rest zurückblieb (Hauptmasse). Der erste Salzauszug reagirt deutlich alkalisch; der zweite ebenfalls gerade noch erkennbar, während am dritten und vierten die Entscheidung nicht mehr mit Sicherheit möglich ist.

Offenbar war also der Gehalt an Alkali von Einfluss auf die Menge der in Lösung gegangenen Substanz.

Sämmtliche Salzauszüge wurden vereinigt, die Hauptmasse des NaCl durch 24stündige Dialyse entfernt, darauf eingeengt und nach möglichster Correctur der Abweichung von der neutralen Reaction weiter dialysirt.

Es erfolgte abermals eine reichliche Ausscheidung, die in gleicher Weise behandelt und mit der Hauptmasse vereinigt wurde.

Die wässerigen und salzhaltigen Auszüge dieser letzten Ausscheidung wurden nach Wegdialysiren der Hauptmenge des NaCl stark eingeengt, und in den Dialysator zurückgebracht.

Die Ausscheidung aus der jetzt sehr kochsalzarmen Lösung war sehr gering und erfolgte sehr träge, eine weitere Fortsetzung der Dialyse erschien nicht mehr gerathen, wesshalb die trübe Flüssigkeit durch Essigsäure geklärt und aus dieser Lösung auf die beschriebene Art eine Essigsäurehemialbumose dargestellt wurde, welche in keinem Punkte von den früher angeführten derartigen Präparaten abwich.

Der gesammte mit Wasser und Salzlösung extrahirte Rückstand *A* wurde durch Waschen mit Wasser vom anhaftenden Salz befreit, der letzte 0·5 Liter betragende Aufguss, mit dem die Masse mehrere Stunden erwärmt worden war, filtrirt und dessen Trockenrückstand nebst Aschegehalt bestimmt.

Der Rückstand bei 105—110° C. betrug 1·45 Grm., die Asche dieses 0.0085 Grm. (= 0·6 Pct.), darunter 0·0055 unlösliche Bestandtheile (= 0·4 Pct.)

Dieses Resultat gestattet ohne Zweifel die Annahme, dass der mit Wasser und Salzlösung extrahirte Rückstand *A* in diesen beiden Medien unlöslich ist und die sehr geringe Menge, die bei langem Digeriren mit Wasser schliesslich in dieses übergegangen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

war, ihre Lösung den vorhandenen Aschenbestandtheilen verdankte.

Dass diese in NaCl und in Wasser unlösliche Substanz nicht aus unverändertem Eiweiss besteht, dagegen spricht schon die ganze Art ihrer Gewinnung aus Lösungen, die wiederholt durch Säure und Kochsalz ausgefällt und stark salzhaltig erwärmt waren, dagegen spricht die Massenhaftigkeit seiner Bildung; und wenn trotzdem noch ein Zweifel bliebe, so wird er durch den Erfolg der Kühne'schen Reaction widerlegt. Diese Substanz löst sich vollständig beim Erwärmen in verdünnter Salpetersäure und zwar mit intensiv gelber Farbe, scheidet sich aber beim Abkühlen der Lösung wieder zum Theil aus, um bei wiederholtem Erwärmen abermals in Lösung zu gehen u. s. f.

In anderen Mineralsäuren, in Essigsäure, ebenso wie in Alkalien, ist die Lösung eine definitive.

Eine etwas grössere Menge eines solchen Präparates wurde in stark verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung neutralisirt und nun im Weiteren genau der eben beschriebene Gang eingehalten.

Das Resultat war im Wesentlichen das gleiche; auch jetzt trat wieder im Dialysator die Scheidung in den braunen, gelée-artigen Satz und eine darüber stehende schwach alkalische Lösung ein; erstere lieferte wieder schwach alkalisch reagirende Salzauszüge und eine kleine Menge in Wasser und in Salzlösung unlöslicher Substanz.

Differenzen ergaben sich bei derartigen Versuchen nur in dem Masse als zufällig grössere oder geringere Abweichungen von der neutralen Reaction stattfinden; je vollkommener diese erreicht wird um so reichlicher und rascher fällt der erste Niederschlag und die Ausbeute an der in NaCl-Lösung und Wasser unlöslichen reinen Hemialbumose aus.

Die braune Farbe derselben kann nicht als Beimengung einer färbenden Substanz betrachtet werden, sondern als optische Eigenschaft der im festen Zustand ausgeschiedenen compacten Substanz, indem es ein Leichtes ist, aus der neutralisirten Lösung derselben durch Verdünnen mit Wasser jederzeit eine Ausscheidung in rein weissen Flocken zu erzielen, die dann beim Erwärmen oder Trocknen wieder die frühere braune, spröde Masse bilden.

Die salzsaure oder essigsaure Lösung derselben verhält sich gegen NaCl, gegen Metallsalze und bei der Dialyse genau so wie die oben beschriebenen Lösungen von Säurehemialbumosen, welche sie thatsächlich auch vorstellt.

Es bleibt jetzt die nähere Untersuchung der im Dialysator über dem Niederschlag *A* klar gebliebenen Lösung *B*, mit welcher auch die ersten Wasserauszüge aus dem Niederschlage nachdem sie filtrirt und eingeengt waren, vereinigt wurden. Es wird sich dabei zeigen, dass auch die Lösung *B* nichts als Hemialbumose enthielt.

Dieselbe wurde in den Dialysator zurückgebracht, an dessen Boden sich nach 24 Stunden ein sehr geringer Belag vorfand.

Die Dialyse wurde im Ganzen fast 7×24 Stunden bei starker Winterkälte unterhalten; trotz dieser langen Dauer aber und trotz mehrmaligem Wechsel der Membran trat jetzt ausser einem kaum nennenswerthen schmierigen Belag keine Ausscheidung mehr ein; die Flüssigkeit blieb klar und zeigte deutlich alkalische Reaction.

10 CC. lieferten an Trockenrückstand bei 105—110° C. = 1.66 Grm.

Dieser enthielt in Wasser unlösl. Bestandtheile = 0·0070 Grm.
„ „ „ „ lösliche = 0·0216 „
An Gesammtasche somit . . . 0·0286 Grm.

Unter den in Wasser löslichen Theilen wurde das NaCl durch Fällung als AgCl zu 0·0073 bestimmt; die Differenz von 0.0143 Grm. als Na_2CO_3 (= 0·0108 NaOH) angenommen.

20 CC. erforderten im Mittel von drei Titrirungen 2·8 CC. Salzsäure (1 CC. = 0·01088 NaOH) entsprechend 0·03 NaOH.

Das Mittel des aus der Differenz der gewogenen Bestandtheile berechneten und des durch Titriren bestimmten Alkaligehaltes in 100 CC. der Lösung betrug somit 0.13 Grm. NaOH.

Diese Bestimmung zeigt, welche geringen Mengen von Alkali (etwa 0·8 Pct. der Hemialb.) in Verbindung mit NaCl (0·073 : 100 CC.) genügen, um eine concentrirte, klare Lösung von Hemialbumose zu vermitteln.

Jedoch nähert sich dieser Gehalt bereits der Grenze, indem beim Verdünnen der Lösung sich bald eine definitive Trübung einstellt. Erwärmt man eine solche Probe, kurz ehe die zur

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

definitiven Trübung nöthige Menge Wasser zugesetzt ist auf 40—50°C., so tritt dieselbe schon jetzt ein, um dann bei Steigerung der Temperatur, ebenso wie beim Wiederabkühlen der Lösung der früheren Klarheit Platz zu machen. Da eine noch länger fortgesetzte Benützung dieser alkalischen Lösung nicht rathsam schien, so wurde der Rest auf die schon beschriebene Weise in eine Essigsäurehemialbumose verwandelt. Eine dreipercentige Lösung dieser zeigte sich in jeder Hinsicht mit den früher angeführten Präparaten übereinstimmend; es war eine Säurehemialbumose mit 4·8 Pct. Essigsäure; ihre dreipercentige Lösung zeigte im Wild'schen Apparat eine Ablenkung von 3·95°, woraus $(\alpha)j = 69°$ berechnet wird.

Um aber noch weiteres Material zu gewinnen, an welchem die Unterschiede im Verhalten der im Dialysator zurückbleibenden Lösung gegenüber dem Niederschlag verfolgt werden könnten, wurde eine neue Lösung bereitet, die bereits vor dem Neutralisiren mehrere Tage der Dialyse unterzogen worden war, nachdem sich gezeigt hatte, dass ohne dieses immer eine grössere Menge unlöslicher Aschenbestandtheile zurückblieb.

In der hierauf neutralisirten und durch $2^1/_2 \times 24$ Stunden dialysirten Lösung trat wie früher wieder die Scheidung in den Niederschlag und die klare, schwach alkalisch reagirende Lösung ein. Beide wurden getrennt und die Lösung nach Correctur der Abweichung von der neutralen Reaction abermals für 3×24 Stunden in den Dialysator gebracht.

Sie lieferte wieder ein reichliches Präcipitat nebst einer kaum mehr alkalisch reagirenden, sicher nicht saueren Lösung. Diese Lösung, noch 2×24 Stunden dialysirt, schied jetzt fast nichts mehr aus, zeigte eine leichte, staubartige Trübung, wurde aber noch, wie an einer Probe gefunden wurde, durch Wasser in geringer Menge gefällt.

Ohne Zweifel war jetzt der Widerstand der Membran zu gross, um den geringen Salzgehalt der Lösung noch weiter herabzumindern und dadurch eine weitere Auscheidung herbeizuführen.

Die ganze Lösung wurde eingeengt und durch Alkohol gefällt, um zur Elementaranalyse verwendet zu werden. (Präparat III).

Verhalten der Hemialbumose zu Alkalien.

Aus diesen bei der Darstellung sich ergebenden Beobachtungen geht zunächst hervor, dass derselben die gleiche Neigung zukommt, sich mit Alkalien zu verbinden, wie ich früher für die Säuren nachgewiesen habe, und dass bei irgend einer Art der Ausfällung aus ihren Lösungen, bei Gegenwart von Alkali ein Theil dieses vom Niederschlag mitgenommen wird.

Man kann, um dies experimentell zu verfolgen, denselben Versuch benützen, der die ähnlichen Beziehungen der Hemialbumose zu Säuren darlegte, indem man eine sorgfältig neutralisirte Lösung derselben mit einer bestimmten Menge Alkali versetzt und durch NaCl die Fällung bewirkt: ein Theil des Alkali wird im Filtrat fehlen und dafür in der Lösung des Niederschlages aufzufinden sein.

Auch bei der Dialyse ist diese grosse Neigung der Hemialbumose, eine gewisse Menge Alkali hartnäckig festzuhalten, sehr auffallend, ja es scheint, dass dieselbe sogar diejenige zur Verbindung mit Säuren noch übertrifft, da selbst das Doppelte der Zeit, welche bei der Dialyse in einer saueren Lösung eine Trübung zu Stande bringt, eine alkalische klar lässt, selbst wenn die Alkalimenge dem betreffenden Säuregehalt kaum äquivalent ist.

In den schwach alkalischen oder neutralen Lösungen bleibt nach der Dialyse gewöhnlich eine etwas grössere Menge in Wasser unlöslicher Aschebestandtheile zurück, wesshalb es sich für künftige Darstellungen empfehlen würde, diese Lösungen stets zuerst als sauere einige Zeit zu dialysiren.

Solche alkalische Lösungen haben ausserdem den saueren gegenüber noch einen anderen, schwerer wiegenden Übelstand, nämlich den einer viel grösseren Zersetzlichkeit.

Während concentrirte, sauere Lösungen sich wenigstens bei Winterkälte mehrere Wochen unverändert erhalten und selbst nach Ausbildung einer dichten Schimmeldecke keinerlei Zeichen einer tieferen Zersetzung bieten, findet man schon nach viel kürzerer Zeit, dass solche alkalische Lösungen, obwohl noch vollständig klar und obwohl weder durch den Geruch, noch mit dem Mikroskop irgend welche Zeichen von Fäulniss zu erkennen sind, dennoch, auf dem Wasserbad erwärmt, Ammoniak entwickeln.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Deshalb wurden auch alle zu den hier mitgetheilten Versuchen verwendete derartige Lösungen vorher in dieser Richtung geprüft.

Leider bietet sich nicht wie bei den Säurehemialbumosen ein so bequemer Weg, um solche Alkaliverbindungen auch nur mit annähernd constantem Gehalt darzustellen, ein Übelstand, der in dem Gegensatz begründet ist, in dem die Wirkung der Alkalien zu dem von Säuren beim Zusammentreffen mit NaCl in Lösungen der Hemialbumose steht.

Während Säure und Kochsalz sich in ihrer lösenden Wirkung auf Hemialbumose gegenseitig stören, in ihrer fällenden dagegen unterstützen, findet hier das Gegentheil statt, indem Alkali und NaCl sich bei der Lösung ergänzen, während die Fällung mittelst NaCl durch die Gegenwart von Alkali wesentlich beeinträchtigt, wenn auch nicht verhindert wird.

Eine zehnpercentige Kochsalzlösung nimmt von einer Säurehemialbumose ebenso wie von reiner Hemialbumose so gut wie nichts auf; eine alkalihaltige dagegen wird hiedurch unschwer in Lösung gebracht. Auf dieser Ergänzung von NaCl und Alkali bei der Lösung von Hemialbumose beruht auch die oben angeführte Reinigung derselben nach ihrer auf irgend eine Weise bewirkten Ausfällung.

Die Doppelwirkung des NaCl als Lösungs- und Fällungsmittel äussert sich aber auch an den Lösungen der Alkalihemialbumose, nur ist die zur Fällung einer alkalischen Lösung nöthige Menge erheblich grösser als die für eine neutrale erforderliche.

Auch hier begegnet man ferner wieder dem verschiedenen Verhalten der einmal ausgeschiedenen und der in Lösung befindlichen Hemialbumose, respective ihrer Verbindungen. Wird von zwei gleichen Portionen einer neutralen Lösung die eine mit einer gewissen Menge Alkali und sodann beide gleichmässig mit Kochsalz in gesättigter Lösung versetzt, so entsteht in der neutralen Probe bereits eine starke Fällung, während die alkalische noch vollkommen klar, obwohl stark opalescirend ist; fügt man jetzt zu der trüben Probe die gleiche Menge Alkali, so wird hiedurch, ja selbst durch ein Mehrfaches dieser Menge, die Trübung nicht aufgehellt; — ob dieselbe jetzt durch Erwärmen aufgehellt werden kann, dies hängt von dem Verhältniss der

einzelnen Bestandtheile, vorwiegend von der Menge des NaCl ab. Was hier ausfiel, ist eine alkalihaltige Hemialbumose. Der Gehalt an Alkali ist ein wechselnder, die Fällung durch NaCl kann in der Lösung eines solchen Niederschlages beliebig oft wiederholt werden, stets bleibt derselbe stark alkalisch.

Mit Erhöhung des Salzgehaltes einer alkalischen Lösung der Hemialbumose beobachtet man nun ähnliche Erscheinungen wie dieselben früher bei den säurehaltigen erwähnt wurden; die Lösung wird zunehmend opalescent; alsdann stellt sich jene Trübung durch gelinde Wärme ein und schliesslich eine directe Fällung.

Die Erscheinungen bieten jedoch bei diesen alkalihältigen Lösungen gewisse Unterschiede dar, welche eben in den verschiedenen Wechselbeziehungen zwischen Alkali und Kochsalz gegenüber dem von Säure und Salz begründet sind.

In allen Lösungen der Hemialbumose bewirkt der als Fällungsmittel wirkende Factor — sei dies Kochsalz oder Säure oder Wasser — schon weit vor jener Grenze, wo eine definitive Ausscheidung erfolgt, eine solche von vorübergehendem Bestand, indem jeder Tropfen des Fällungsmittels in seiner unmittelbaren Umgebung eine Trübung erzeugt.

Je weniger günstig nun bei fortgesetztem Zusatz die Mischungsverhältnisse einer solchen Lösung werden, um so schwieriger erfolgt die Wiederauflösung des einmal Ausgeschiedenen; es bedarf hiezu schliesslich der unterstützenden Einwirkung der Wärme. Während dieser Einfluss beim Zusammenwirken von Säure und Salzen ein vorübergehender ist, kann derselbe bei Gegenwart von Alkali eine bleibende Klärung herbeiführen.

Während ferner im Vorhergehenden solche Mischungsverhältnisse von Lösungen erwähnt wurden, bei welchen jene prodromale Trübung durch gelinde Wärme unmittelbar in die definitive übergeht, die letztere einleitet, wird dieselbe bei alkalihältigen Lösungen sowohl durch Temperaturerhöhung wie durch Abkühlen wieder zum Verschwinden gebracht. Das Eintreten dieser Erscheinung, sowie die Temperaturgrade, bei welchen sie erfolgt, sind auch hier wieder abhängig von den Mengenverhältnissen der drei Bestandtheile: Hemialbumose, Salz und Alkali.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ein Beispiel sei hier angeführt.

Die Concentration der benützten Lösung wurde durch mehrere Einzelbestimmungen im Mittel festgestellt, sie betrug in 100 CC. = 19 Hemialb. + 13 NaCl + 0·065 NaOH. Diese Lösung stammte von einem Niederschlag, der durch viermalige Fällung mit überschüssigem NaCl aus scheinbar neutralisirter Lösung gewonnen war. Der abgepresste Niederschlag war in Wasser gelöst und die Lösung soweit eingeengt worden, dass sie beim Erkalten gerade noch klar blieb. Dieselbe war bei durchfallendem Licht vollkommen klar, bei auffallendem aber opalescirend; auf weniger als 30° C. erwärmt ward die Flüssigkeit dick trübe, um gegen 70° C., ebenso beim Abkühlen, wieder klar zu werden wie vordem.

Damit die Trübung durch gelinde Wärme ausbleibt, muss die Lösung mit Wasser verdünnt werden, und zwar ist dies der Fall bei einem Verhältniss von:

100 CC: 14·4 Hemialb. + 10·5 NaCl + 0·05 NaOH.

Wird hierauf durch Zusatz von Salzlösung mit 26·4 NaCl auf 100 CC. wieder der frühere Gehalt an NaCl hergestellt, so beobachtet man den Eintritt der Trübung wieder, doch erst bei 40° C. Das jetzige Verhältniss der Bestandtheile ist:

100 CC.: 12·3 Hemialb. + 13 NaCl + 0·042 NaOH.

Wird der Kochsalzgehalt weiter erhöht bis einem Verhältniss von:

100 CC.: 10 Hemialb. + 15·5 NaCl + 0·034 NaOH

so ist die Flüssigkeit auch abgekühlt leicht trübe, zeigt aber schon unter 35° C. starke Zunnahme der Trübung. Fortgesetzte Erhöhung des Salzgehaltes bewirkt, trotz Abnahme des Gehaltes an Hemialbumose, zunehmende Fällung. Wird die ursprüngliche Lösung, ohne erst mit Wasser zu verdünnen, sogleich mit der concentrirten Salzlösung versetzt, so erfolgt die Trübung (ohne Erwärmen) bei einem Mischungsverhältniss von:

100 CC.: 17 Hemialb. + 14·5 NaCl + 0·05 NaOH.

Kurz zuvor, bei einem Verhältniss von

100 CC.: 17·3 Hemialb. + 14·2 NaCl + 0·05 NaOH

war die Lösung noch klar, trübte sich aber sofort intensiv bei kaum 30° C.

Bei der folgenden Übersicht sind die Mischungsverhältnisse wie bisher für 100 CC. angegeben.

Nr.	Hemialb.	NaCl	NaOH	heiss	kalt	Trübung bei gelinder Wärme
1	19	13	0·065	—	—	30° C.
2	14·4	10·5	0·05	—	—	—
3	12·3	13	0·042	—	—	40°
4	10	15·5	0·034	(+)	(+)	35°
5	17·3	14·2	0·05	—	—	30°
6	17	14·5	0·05	+	+	

Aus diesen Versuchen geht somit hervor, dass bei Anwesenheit von 0·065 NaOH: 100 CC. und 14·2 NaCl noch über 17 Grm. Hemialbumose in Lösung bestehen können; sodann, dass die „Coagulation" durch gelinde Wärme in solchen stark salzhaltigen, zugleich schwach alkalischen Lösungen bei jenem Zustand derselben eintritt, welcher das Vorstadium der definitiven Fällung bildet, und zwar bei um so niedrigerer Temperatur, je grösser die Annäherung an jene; endlich dass beide Erscheinungen, die definitive Trübung und die prodromale, vorwiegend vom Gehalte der Lösung an NaCl, zum geringeren Theil von demjenigen an Hemialbumose abhängen.

Das Auftreten und die Bedingungen sind also hier die gleichen, wie bei den säurehaltigen Lösungen; gerade bei diesen alkalischen, sowohl in der Kälte als bei höherer Temperatur klar bleibenden Lösungen ist diese Erscheinung der „Coagulation" besonders charakteristisch, sie repräsentirt einen ganz wesentlichen Unterschied im Verhalten der Hemialbumose gegenüber dem Pepton.

Während bei den bisher erwähnten Fällen die Mischungsverhältnisse der alkalischen Lösungen sich in der Nähe der

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Fällungsgrenze durch Kochsalzüberschuss bewegten, wiederholen sich, ganz analog dem Verhalten saurer Lösungen, dieselben Erscheinungen und zwar immer auf Grund derselben Bedingungen, an Lösungen mit knapp ausreichendem Gehalt an Lösungsmittel. Solche Lösungen werden je nach dem Gehalt an letzterem durch Verdünnen mit Wasser gefällt; dabei kann die erstentstandene Trübung, wenn die Verdünnung eine gewisse niedere Grenze nicht überschritten hatte, durch Erwärmen noch aufgehellt werden; auch hier geht der definitiven Trübung wieder jener Zustand vorher, welcher die „Coagulation" durch gelinde Wärme veranlasst.

Verhalten der reinen Hemialbumose zu NaCl.

Die wichtigste hierher gehörige Eigenschaft der Hemialbumose, das verschiedene Verhalten der ausgeschiedenen und der in Lösung befindlichen zu NaCl, wurde bereits oben erwähnt; es kann um so weniger befremden, als im Verlauf dieser Untersuchungen sich wiederholt Gelegenheit fand, diese Eigenthümlichkeit auch bei den Verbindungen der Hemialbumose mit Säuren und Alkalien unter verschiedeneu Umständen hervorzuheben.

Über die thatsächliche Löslichkeit der Hemialbumose in NaCl lassen die Beobachtungen beim Neutralisiren keinen Zweifel; diese Löslichkeit ist eine sehr bedeutende.

Das Mischungsverhältniss, wie es in den angezogenen Versuchen nach vollendeter Neutralisation bestand, war:

100 CC. : 14·7 Hemialb. + 0·86 NaCl.

Hiedurch wird aber noch nicht das Maximum der Löslichkeit in NaCl ausgedrückt; denn wird statt der damals verwendeten Lauge eine solche von doppelter Stärke (1 CC.=0·02176 NaOH) benützt, so entsteht folgendes Endverhältniss:

100 CC. : 20 Hemialb. + 1·06 NaCl.

Auch diese Lösung ist bei jeder Temperatur klar.

Zur Ermittlung des Einflusses, den die Abnahme des absoluten Salzgehaltes hat, wurde die erstangeführte Lösung (mit 14·7 Hem.) mit Wasser versetzt. Jeder Tropfen erzeugt in seiner Umgebung

eine Trübung, die beim Umschütten anfangs rasch, später zögernd wieder verschwindet. Bei einem Mischungsverhältniss von

100 CC. : 9 Hemialb. + 0·5 NaCl

tritt bei etwa 40° C. deutliche Trübung ein, die weder beim Abkühlen noch bei Kochhitze vollständig verschwindet und durch fortgesetzten Wasserzusatz immer beträchtlicher wird.

Um diese Trübung durch Kochsalzzusatz zum Verschwinden zu bringen, genügt es jetzt nicht, diesen auf die im erstangeführten Beispiel bestandene Höhe von etwa 1 Pct. der Lösung zu bringen, dieselbe muss vielmehr beträchtlich überschritten werden und auch dann tritt die lösende Wirkung nur ein, so lange die Ausscheidung noch in Form einer gleichmässigen zarten Trübung besteht; sie versagt aber, wenn der Niederschlag einmal in compacter Masse erfolgt ist, wie es zumal durch Erwärmen geschieht.

Um ferner die Wirkung steigenden Salzgehaltes zu verfolgen, wurde zu der gleichen neutralisirten Lösung von einer Salzlösung mit 26·4 Grm. in 100 CC. zugesetzt.

Bei einem Mischungsverhältniss von

100 CC. : 13 Hemialb. + 10 NaCl

ist die Lösung noch bei jeder Temperatur klar, obwohl stark opalescirend: bei einem Verhältniss von

100 CC. : 12 Hemialb. + 11 NaCl

tritt beim Erwärmen auf 40° C. die Trübung ein, die beim Kochen nicht vollständig verschwindet und jetzt auch beim Wiederabkühlen bleibt.

Wird ohne zu Erwärmen mit dem Zusatz der Salzlösung fortgefahren, nachdem vorher der Salzgehalt durch festes NaCl auf 10 Pct. der Lösung gebracht war, um grössere Verdünnung zu vermeiden, so zeigt sich die definitive Trübung bei

100 CC. : 10·6 Hemialb. + 14·8 NaCl.

Die vorläufige Trübung sowohl wie die bleibende treten also hier viel früher ein als bei Anwesenheit von Alkali. Fortgesetzter Zusatz von NaCl bewirkt zunehmende Fällung, doch ist selbst bei Sättigung mit NaCl die Ausfällung eine sehr unvollständige.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Sämmtliche der hier angeführten Zahlen sind aus Versuchen mit mittleren Werthen abgeleitet, da sowohl in Bezug auf den Gehalt an Hemialbumose, wie den an NaCl Abweichungen von mehreren Percenten bei den einzelnen Versuchen vorkamen, die ich auf die Schwierigkeit einer absolut genauen Neutralisation beziehen möchte.

Um die Verhältnisse an einer mit NaCl gesättigten Lösung zu untersuchen, wurde die Lösung einer reinen Salzsäurehemialbumose neutralisirt und durch überschüssiges NaCl in Substanz gefällt, der Niederschlag in Wasser gelöst und nach Correctur der etwaigen Abweichung von der neutralen Reaction abermals auf diese Weise gefällt. Das Filtrat stellte die benützte Lösung dar.

In einem aliquoten Theile derselben wurde der Trockenrückstand bei 110° und von diesem durch Verkohlen etc. der Gehalt an Salz und organischer Substanz (Hemialb.) bestimmt. In vier verschiedenen derartigen Lösungen erreichte der Kochsalzgehalt die Höhe von 30·8 Grm. (zugleich als AgCl bestimmt) bis 32·2 Grm. (als Rückstand des Wasserauszuges bestimmt) für 100 CC. Die Anwesenheit der Hemialbumose begünstigt also in hohem Grade die Löslichkeit des NaCl.

Der Gehalt an Hemialbumose schwankte zwischen 1·3 bis 2·8 in 100 CC.

An allen diesen Lösungen war keinerlei Abweichung von der neutralen Reaction erkennbar, obwohl bei dem geringen Gehalt an Hemialbumose der verdeckende Einfluss dieser wegfiel. Desshalb möchte ich die Schwankungen im Gehalte der verschiedenen Lösungen nicht auf geringe, etwa der Beachtung entgangene Abweichungen der Reaction zurückführen. Alle diese Lösungen trüben sich bei 30 bis 40° C., verlieren aber diese Eigenschaft durch Verdünnen mit Wasser noch ehe der Salzgehalt unter 28 : 100 herabgesunken; ebenso durch Zusatz einer gewissen Menge Alkali.

Die Ausfällung der Hemialbumose aus neutraler Lösung ist also eine weit unvollständigere als durch Säure und Kochsalz, der nicht ausgefällte Antheil unterscheidet sich aber in nichts von dem ausgefällten; durch Zusatz von Säure wird derselbe als Säureverbindung ausgeschieden, die sich in allen Stücken genau so verhält, wie die aus dem Kochsalzniederschlag oder auf

irgend eine Weise gewonnene. Sämmtliche bisher erwähnte, durch Kochsalz vermittelte Lösungen zeichnen sich durch eine je nach dem Salzgehalt wechselnde Opalescenz aus und keine derselben konnte ich zur polarimetrischen Untersuchung brauchbar finden, so dass man gerade bei diesen Lösungen an die von Brücke, von A. Schmidt und neuerdings von Poehl[1] und von Kieseritzky[2] für gewisse Eiweisslösungen vertretene Ansicht erinnert wird, wonach es sich hier um keine echten Lösungen, sondern um Quellungszustände des Eiweisses handelt.

Verhalten der reinen Hemialbumose zu Metallsalzen.

Da eine wässerige Lösung der Hemialbumose nicht existirt und nicht herzustellen ist, so kann es sich nur um das Verhalten von Metallsalzlösungen zu den sauren, alkalischen oder durch NaCl vermittelten Lösungen handeln.

Am reinsten werden die Verhältnisse an einer möglichst salzarmen Lösung sich darbieten, wie sie durch Neutralisiren der Lösung einer reinen Salzsäurehemialbumose erhalten wird. In einer solchen Lösung erzeugen dann Kupfer-, Blei- und Silbersalze Niederschläge, die sich durch Erwärmen und selbst bei Siedhitze nicht auflösen. Der gleiche Erfolg wird natürlich auch dadurch erreicht, dass eine saure oder eine alkalische Lösung erst nach Zusatz des Fällungsmittels neutralisirt wird; dabei beobachtet man alsdann, dass die vor vollendeter Neutralisation entstandenen Niederschläge sich durch Erwärmen lösen oder wenigstens theilweise verschwinden, beim Abkühlen wieder erscheinen.

Wird von einem solchen Niederschlag die überschüssige Lösung abgegossen und derselbe mit Wasser gewaschen, so findet man, dass derselbe in Wasser jeglicher Temperatur unlöslich ist.

Geringe Mengen von Säure, ebenso wie von Alkali bringen aber sowohl die Kupfer- als die Blei- und Silberniederschläge sofort in Lösung. Nur die Salpetersäure macht eine Ausnahme, indem schon eine geringe Menge davon in derartigen Lösungen augenblicklich starke Niederschläge erzeugt.

---

[1] Inaug. Dissert. der Univers. Dorpat. 1882.

[2] Inaug. Dissert. der Univers. Dorpat. 1882

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ist die Menge von Säure oder Alkali nicht ausreichend, um ohne Weiteres die Lösung herbei zu führen, so tritt diese während des Erwärmens ein, worauf beim Abkühlen wieder ein Theil ausgeschieden wird.

Elementaranalysen der reinen Hemialbumose.

Präparat I.

Dasselbe war eine in Wasser und Salzlösung unlösliche Hemialbumose.

1. 1·447 Grm. bei 105—110° getrocknet, gab an Asche 0·015 Grm. (=1·03 Pct.), darunter 0·013 in Wasser unlösliche Bestandtheile, hauptsächlich aus Fe, Ca und reichlich PO_4H_3 bestehend.

2. 1·082 Grm. gaben =0·0085 Grm. fast nur in Wasser unlösliche Aschenbestandtheile (=0·8 Pct.).

Der Aschegehalt betrug hienach im Mittel 0·9 Pct.

3. 0·273 aschefreie Substanz gaben 0·5236 Grm. CO_2 = 0·1428 C = 52·3 Pct. und 0·1639 H_2O = 0·01821 H . . = 6·67 „

4. 0·346 Grm. reiner Substanz gaben 0·664 Grm. CO_2 = 0·1816 C . . = 52·5 und 0·2113 Grm. H_2O = 0·02347 Grm. H . . . = 6·8

5. 0·3204 Grm. reiner Substanz gaben 0·6118 Grm. CO_2 = 0·16685 C . = 52·14 und 0·1975 Grm. H_2O = 0·022 H . = 6·9

6. 0·6236 Grm. gaben 0·1113 Grm. N. = 17·8

7. 0·3667 Grm. gaben 0·06561 Grm. N. = 17·9 „

8. 1 134 Grm. gaben 0·109 $BaSO_4$. = 1·31% S

Präparat II.

Ebenfalls eine in Wasser und Salzlösung unlösliche Hemialbumose; bei 105—110° C. auf constantes Gewicht gebracht.

1. 1·605 Grm. gaben 0·0193 Grm. Gesammtasche (=1·2 Pct.) mit 0·0137 Grm. (=0·85 Pct.) in Wasser unlösliche Antheile.

2. 1·158 Grm. gaben 0·0093 Grm. Gesammtasche (=0·8 Pct.) mit 0·008 Grm. unlösliche Asche (=0·7 Pct.).

Die Substanz enthielt also im Mittel = 1 Pct. Asche, welche bei der Berechnung in Abzug gebracht wurde.

3. 0·2952 Grm. gaben 0·5678 Grm. CO_2 = = 0·15485 C = 52·45 Pct.
und 0·1840 Grm. H_2O = 0·0204 H. ..... = 6·85
4. 0·306 Grm. gaben 0·5814 Grm. CO_2 = = 0·15856 C = 52·30 „
und 0·1863 Grm. H_2O = 0·0207 H. .... = 6·80 „
5. 0·4124 Grm. gaben 0·07289 Grm. N .. = 17·67
6. 0·38465 Grm. gaben 0·0677 Grm. N .. = 17·60 „
7. 0·9335 Grm. gaben 0·0780 Ba SO_4.. . = 1·15% S.

Präparat III

stammte aus der oben (Seite 54) erwähnten Lösung, welche nach Abscheidung des Niederschlages im Dialysator zurückgeblieben war.

1. 1·425 Grm. bei 105—110° getrocknet, wie alle diese Präparate, gaben 0·011 Grm. Gesammtasche (= 0·77 Pct.); darunter 0·0035 in Wasser unlösliche Bestandtheile (= 0·24 Pct.).

2. 1·160 Grm. gaben 0·0073 Grm. Gesammtasche (= 0·63 Pct.) mit 0·0023 Grm. in Wasser unlöslichen Bestandtheilen.

Der mittlere Aschegehalt betrug somit 0·7 Pct.; er wurde bei der Berechnung in Abzug gebracht.

3. 0·238 Grm. lieferten 0·4547 Grm. CO_2 = = 0·124 C = 52·4 Pct.
und 0·1440 Grm. H_2O = 0·016 H. . = 6·76 „
4. 0·261 Grm. gaben 0·4995 Grm. CO_2 = = 0·1362 C = 52·2
und 0·1613 Grm. H_2O = 0·01793 H. . = 6·87
5. 0·3718 Grm. gaben 0·06379 Grm. N .. = 17·16
6. 0·1782 Grm. gaben 0·03114 Grm. N ... = 17·50
7. 0·1650 Grm. gaben 0·02827 Grm. N . = 17·23 „

Sämmtliche Verbrennungen wurden im beiderseits offenen Rohr mit Benützung eines Gemisches von Kupferoxyd und Bleichromat, nebst vorgelegter Kupferrolle ausgeführt; der Stickstoff wurde volumetrisch bestimmt, mit dem gleichen Gemisch und Anwendung von Schiff's Apparat.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Zusammenstellung.

	Präparat I (Asche 0·9 Pct.)				Präparat II (Asche 1 Pct.)			Präparat III (Asche 0·7 Pct.)			
	1	2	3	Mittel	1	2	Mittel	1	2	3	Mittel
C	52·3	52·5	52·14	52·31	52·45	52·3	52·38	52·4	52·2	—	52·3
H	6·67	6·8	6·9	6·8	6·85	6·8	6·82	6·76	6·87	—	6·81
N	17·8	17·9	—	17·85	17·67	17·6	17·64	17·16	17·5	17·23	17·3

Das Gesammtmittel dieser drei Präparate ist demnach:

C = 52·3; H = 6·8; N = 17·6; S = 1·23 Pct.

Ehe mir die Beziehungen der Hemialbumose zu Säuren und Alkalien bekannt waren und ehe ich gelernt hatte, dieselbe auf die beschriebene Weise rein darzustellen, habe auch ich Zahlen erhalten, die den von Kühne und Chittenden erhaltenen sich näherten und niedere Werthe für C und N ergaben, unter einander aber ebenfalls erhebliche Differenzen aufwiesen.

Als Fehlerquellen, welche diese niederen Werthe veranlassten, glaube ich nach meinen Erfahrungen annehmen zu müssen:

1. Die Präparate sind säurehältig; diess kann, wie erwähnt, selbst bei der Ausfällung mit Wasser der Fall sein; ebenso bei dem im Dialysator ausgeschiedenen, in Kochsalzlösung nicht oder schwer löslichen Niederschlag.

So hat Herr Jac. G. Otto [1] geradewegs die bekannte Fällung mittelst Säure und NaCl nach mehrmaliger Alkoholfällung zur Verbrennung benützt, also eine Salzsäurchemialbumose mit typischem Gehalt an HCl, wie sich aus den angeführten Eigen-

[1] Zeitschrift für physiol. Chemie von Hoppe-Seyler. „Beiträge zur Kenntniss der Umwandlung von Eiweissstoffen durch Pankreas ferment. (Aus dem physiol. chem. Institut in Strassburg.)

schaften unschwer erkennen und aus seinen Percentzahlen berechnen lässt, analysirt. Auf ähnlichen Fehlern beruhen übrigens auch seine Angaben über das Pepton, zu dessen Darstellung die in letzter Zeit vielgeübte Fällungsreaction mit Phosphorwolframsäure benützt wurde. Ich hoffe, bei einer anderen Gelegenheit an dieser Methode die Kritik üben zu können, welche Herr Otto selbst unterlassen hat. Wie es unter diesen Umständen mit der von diesem Autor angenommenen Hydratation beschaffen ist, bedarf wohl keiner näheren Auseinandersetzung.

2. Die Lösungen sind zwar genau neutralisirt, enthalten aber Natriumacetat.

3. Die betreffenden Präparate sind alkalihaltig in dem Grade, dass die bei der Verbrennung stattfindende Carbonatbildung die Werthe für C herabdrückt; dazu kommt die Möglichkeit einer unter dem Einfluss des Alkali stattgefundenen Zersetzung.

4. Ungenauigkeiten der Aschebestimmung. Diese sind hier nicht ganz gering anzuschlagen bei dem meist geringen Gehalt in der kohlenreichen, schwer zu veraschenden Substanz.

Bei den mannigfachen Fehlerquellen ist es natürlich, dass die Abweichung von dem richtigen Verhältniss im einzelnen Fall keine bedeutende zu sein braucht, dass aber mehrere an sich geringe Fehler bei ihrem Zusammentreffen sich genügend summiren können, um die Percentzahlen wesentlich herabzudrücken.

Die Darstellung eines Präparates, an dem die wahre percentische Zusammensetzung gefunden werden kann, ist durchaus nicht schwierig; dazu bedarf es blos der Lösung einer reinen Salzsäurehemialbumose, die sorgfältig zu neutralisiren ist unter Beachtung der angeführten Eigenthümlichkeiten. Eine minimale Abweichung der Reaction nach Seite der Alkalescenz wird natürlich weniger schaden, als das Zurücklassen eines wenn auch geringen Säuregehaltes. Vergleicht man mit den angeführten Mittelwerthen der Hemialbumose diejenigen für Fibrin (nach Maly [1]):

---

[1] Maly. Über die chem. Zusammensetzung u. physiol. Bedeutung der Peptone. Journal f. prakt. Chemie. Bd. 11, p. 97, J. 1875.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

	C	H	N
Hemialbumose..	.52·35	—6·8	—17·75
Fibrin	.52·51	—6·98	—17·34 (17·08 bis 17·7)

so ist die Übereinstimmung eine sehr grosse. Die einzige bemerkenswerthe Differenz mit 0·4 Pct. betrifft den Stickstoffgehalt und hiefür nehme ich keinen Anstand die Beschaffenheit der analysirten Fibrinpräparate verantwortlich zu machen. Durch das minutiöse Reinigungsverfahren, dem Maly seine Präparate unterzogen hatte, waren gegenüber den meisten älteren Analysen mit ihrem allzuhohen Kohlenstoff- und zu niederen Stickstoffgehalt erst die richtigen Werthe festgestellt worden. Die hier angezogene Stickstoffzahl war aber das Mittel aus einer grösseren Reihe von Analysen verschiedener Präparate, darunter auch solche mit etwas zu niederem Gehalt, da offenbar selbst die fortgesetzte Ätherextraction an dem Fibrin mit seinen dichtverfilzten Fasern und seiner grossen Oberfläche fast nothwendig an einzelnen Präparaten Spuren von Fett zurücklassen musste. Dafür spricht auch der etwas höhere Kohlenstoffgehalt und gerade dessen Verhältniss zur Stickstoffdifferenz.

Auch der Schwefelgehalt weist keine wesentliche Differenz auf.

Desshalb trage ich kein Bedenken, **die percentische Zusammensetzung des Fibrins und der Fibrinhemialbumose als vollständig übereinstimmend zu erklären und jede Spaltung des Eiweissmoleküls auszuschliessen.**

Überblickt man die wesentlichen Eigenschaften der Hemialbumose, vor Allem ihre Unlöslichkeit in Wasser, ihre Unlöslichkeit in Kochsalzlösung, ihre „Coagulirbarkeit“ durch Wärme, ihre Fällbarkeit durch Neutralsalze und Säure, sowie durch Metallsalze aus neutraler Lösung, so sieht man von den charakteristischen Eigenthümlichkeiten genuinen Eiweisses keine fehlen. Die Abweichungen im Verhalten von der Muttersubstanz: die relative Löslichkeit in Salzlösung, die leichte Löslichkeit in verdünnten Säuren und Alkalien und die Eigenschaft als Säure-, respective Alkaliverbindungen aus Lösungen ausgefällt zu werden, bilden durchaus keine fundamentale, sondern nur graduelle Unterschiede in Bezug auf Eigenschaften, die unter Umständen an den verschiedensten notorischen Eiweisssubstanzen gefunden werden.

Ist ja doch selbst die Erscheinung der Coagulirbarkeit durch Wärme eine sehr verschiedene.

Die gerade der Hemialbumose gegenüber den genuinen Eiweisskörpern vorwiegend eigenthümlichen innigen Beziehungen zu Säure und Alkali sind ebenfalls in jeder Beziehung nur graduelle. Einige Versuche, die ich in Gemeinschaft mit Herrn Emich angestellt habe und die wir weiter im Auge zu behalten gedenken, haben es uns wahrscheinlich gemacht, dass die Fähigkeit von Eiweiss, bei Berührung mit Alkalien oder Säuren eine gewisse Menge davon rasch aufzunehmen und als Säureverbindung gefällt zu werden, eine sehr allgemeine ist und insbesondere alle jene sauer reagirenden Eiweissmodificationen, wie sie so oft beschrieben wurden, wahrscheinlich sämmtlich solche Säureverbindungen darstellen.

Stellt man diesen Eigenschaften der Hemialbumose diejenigen des Peptons gegenüber — seine absolute Löslichkeit in Wasser und Salzlösungen, seine Nichtfällbarkeit durch Säuren und Salze, das Fehlen jeder Andeutung von Coagulation durch Wärme — so kann über die Stellung der Hemialbumose zum genuinen Eiweiss einerseits, zum Pepton anderseits kein Zweifel obwalten.

Der fundamentale Unterschied beginnt eben erst beim Pepton; aber auch dieses ist noch Eiweiss und zwar mit ungespaltenem Molekül, nicht blos seiner percentischen Zusammensetzung, sondern auch seiner physiologischen Bedeutung nach.

Resumé.

1. Die Hemialbumose ist ein einheitlicher Körper.

2. Dieselbe ist in Wasser irgend welcher Temperatur ebenso wenig löslich als coagulirtes Eiweiss.

3. Dieselbe ist, einmal im reinen Zustand ausgeschieden, auch in Kochsalzlösung unlöslich, wird dagegen von NaCl in Lösung gehalten. Die relative Löslichkeit in NaCl nimmt von einer gewissen Grenze an mit steigendem Gehalt der Lösung an NaCl ab, ebenso beim Herabsinken unter eine gewisse Grenze.

4. Die Hemialbumose besitzt eine hervorragende Neigung, sich mit Säuren und Alkalien zu verbinden.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Eine solche Säureverbindung ist der durch Kochsalz und Säure erzeugte Niederschlag, auf der Unlöslichkeit desselben in NaCl-Lösung beruhend.

5. Die hervorragenden Eigenthümlichkeiten der Lösungen von Hemialbumose und der aus diesen erzeugten Niederschläge beruhen auf dem Zusammenwirken jener mit Alkali, Säure und Salzen (der Alkalien und Metalle).

6. Die den Eiweisslösungen eigenthümliche Erscheinung der Coagulation durch Wärme ist an den Lösungen der Hemialbumose erhalten und nur graduell geändert in Folge der innigeren Beziehungen derselben zu ihren Lösungsmitteln.

7. Die percentische Zusammensetzung ist dieselbe wie die des Eiweisskörpers, aus der die Hemialbumose dargestellt wurde.

8. Da diese letztere nicht verändert ist, da alle das Eiweiss charakterisirenden Eigenschaften erhalten und ihre Abänderungen nur in graduellen Unterschieden bestehen, die nicht beträchtlicher sind als sie unter notorischen Eiweisskörpern gefunden werden, so kann die Hemialbumose nicht als durch Spaltung des Eiweissmoleküls entstanden betrachtet werden.

9. Zur Annahme einer Hydratation liegt keinerlei Anhaltspunkt vor.

Zum Schluss muss ich mir noch eine mehr persönliche Bemerkung erlauben.

In dieser Arbeit, die bereits zu Anfang dieses Jahres abgeschlossen und zusammengestellt war, deren Drucklegung sich aber zu Folge äusserer Umstände bisher verzögerte, ist nur der erste Theil der Untersuchungen von Kühne und Chittenden berücksichtigt. Die mittlerweile im letzten Heft der Zeitschrift für Biologie (Heft I, Band XX) erschienene Fortsetzung der letzteren konnte ich ohne vollständige Umarbeitung und ohne abermals die Drucklegung unabsehbar zu verzögern, nicht mehr eingehend mit meinen Resultaten in Vergleich stellen.

Die schroffen Gegensätze, in welchen letztere mit den von Kühne und Chittenden vertretenen Anschauungen stehen, nach welchen die Hemialbumose ein Gemenge von vier ver-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

schiedenen Körpern und zwar von Spaltungsproducten des Eiweisses vorstellen soll, lassen eine vielleicht unvollständige Gegenüberstellung unthunlich erscheinen, und ich glaubte um so mehr auf eine solche verzichten zu dürfen, einmal, weil dem fachkundigen Beurtheiler eine eingehende Berücksichtigung beider Arbeiten doch nicht erspart werden kann und dann, weil ich hoffe, dass das Interesse des Gegenstandes, sowie die Wichtigkeit der thatsächlichen oder vermeintlichen Beziehungen zur Gruppe der Albuminstoffe noch manche Bearbeitung und Prüfung veranlassen werde.